

 **La Chimica e l'Industria** online

 **Organo Ufficiale della Società Chimica Italiana**



ISSN 2283-544X

Biotecnologie: salute e catalisi

Premio Fernando Pulidori



#TeamUpToImprove

Il miglioramento dei processi è come il tandem.
Con il partner giusto tutto funziona in modo più efficiente.

L'ottimizzazione energetica è la chiave per una produzione sostenibile. In qualità di partner esperto ti aiutiamo a far fronte all'aumento dei costi energetici e agli obiettivi ambientali più complessi. Siamo al tuo fianco per scoprire le modalità di risparmio e di impiego delle risorse, mantenendo la sicurezza, la qualità, l'affidabilità e i tempi operativi.



Vuoi saperne di più?
www.it.endress.com

Endress+Hauser 
People for Process Automation



BIOTECNOLOGIE ROSSA E BIANCA

Le biotecnologie comprendono tutte quelle tecnologie che impiegano organismi viventi, o parti di essi, per produrre su scala commerciale prodotti utili all'uomo, migliorare piante e animali, o sviluppare microrganismi con applicazioni specifiche. Sebbene molte persone credano che le biotecnologie siano una scoperta recente, esse esistono in realtà da migliaia di anni. Si possono infatti distinguere in due categorie principali: biotecnologie tradizionali e innovative.

Quelle tradizionali sono tecnologie produttive utilizzate da millenni, quali l'agricoltura, la zootecnica e lo sfruttamento delle attività fermentative dei microrganismi.

Lo sviluppo delle biotecnologie innovative è stato ed è molto veloce: infatti, in solo un paio di secoli, si è arrivati ad un livello di conoscenza molto elevato rispetto a quello che è stato ottenuto in precedenza, in più di 7.000 anni.

Tra il 1857 e il 1876 Pasteur comprende la produzione della birra e i microrganismi che la permettono. Per questo viene considerato il *padre della biotecnologia*.

Inoltre, identifica i batteri coinvolti nella fermentazione del latte e del burro, nonché quelli responsabili delle alterazioni della birra e del vino. In seguito, sviluppa un vaccino contro la rabbia selezionando ceppi mutanti del virus che hanno perso la loro virulenza nell'uomo. Questa tecnica anticipa la biotecnologia moderna basata sull'ingegneria genetica.

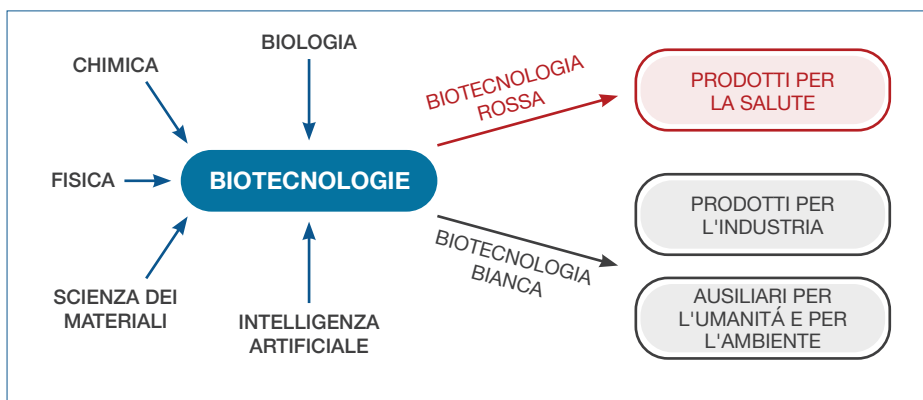
Nel 1878 vengono scoperti i componenti delle cellule di lievito e vengono chiamati "enzimi". La paternità dell'ingegneria genetica è da attribuire a Frederick Griffith. Si deve a lui la scoperta che i batteri, attraverso un processo definito 'trasformazione batterica', possono acquisire, riconoscere e mantenere

materiale ereditario interno, derivante da altri batteri. L'avvento delle tecnologie del DNA ricombinante, o ingegneria genetica, segna una linea di demarcazione fra biotecnologie *tradizionali* e biotecnologie *innovative*, caratterizzate dal cambiamento mirato di attività di organismi ottenute modificandone il patrimonio genetico. Vi sono applicazioni che, pur non servendosi di microrganismi, sono classificate come biotecnologiche. Le biotecnologie sono, infatti, ampiamente utilizzate nello sviluppo di nuove terapie mediche o innovativi strumenti diagnostici. La biotecnologia è contraddistinta da colori: in questo numero si trattano, in particolare, le biotecnologie rossa e bianca.

La biotecnologia rossa viene applicata ai processi biomedici e farmaceutici. Alcuni esempi sono l'individuazione di organismi in grado di sintetizzare farmaci o antibiotici, oppure lo sviluppo di tecnologie di ingegneria genetica per la cura di patologie.

La biotecnologia bianca è la branca che si occupa dei processi biotecnologici di interesse industriale. Un esempio è la costituzione di microrganismi in grado di produrre sostanze chimiche utilizzate in genetica, di cui i radiotraccianti utilizzati in medicina sono ottimi esempi.

La biotecnologia integra scienze come biologia, chimica e fisica, insieme a ingegneria, calcolatori e tecnologia dell'informazione, per sviluppare strumenti e prodotti che rappresentano non solo una



grande promessa, ma anche un'importante sfida. Nel campo della salute, i cambiamenti sono sicuramente tra i più rilevanti, poiché è cambiato radicalmente il modo di condurre la ricerca sui nuovi farmaci. Questi, infatti, sono molto diversi rispetto al passato e i ricercatori sfruttano la comprensione dei meccanismi biologici che regolano le malattie e le banche dati genetiche per identificare più rapidamente molecole efficaci nel trattamento di diverse patologie.

Quali sono i principali vantaggi per l'uomo?

Le biotecnologie offrono strumenti avanzati per proteggere la nostra salute, facilitando lo sviluppo di nuovi farmaci, vaccini più sicuri, terapie genetiche per disfunzioni metaboliche, trattamenti contro varie forme di epatite e farmaci antitumorali più efficaci e meno dannosi per l'organismo. Inoltre, permettono lo sviluppo di stimolatori del sistema immunitario, in caso di sua insufficienza, e di regolatori per moderarne l'attività quando è eccessiva.

Con la crescita dell'utilizzo della biotecnologia in molti settori, si è ritenuto necessario formulare delle norme volte a regolamentare i problemi posti dalle innovazioni scientifiche (in particolare la liceità degli esperimenti).

Da sottolineare che, secondo le previsioni, entro il 2030 i farmaci biotech rappresenteranno fino all'80% del mercato totale, rispetto al 2021, quando i farmaci biotech in fase di sviluppo costituivano circa il 40% del totale.

La biotecnologia bianca sta emergendo come un'alternativa sempre più valida per i chimici, offrendo metodi più rispettosi dell'ambiente rispetto a quelli tradizionali. Questo approccio evita, ad esempio, l'uso di complessi enantioselettivi di metalli preziosi o di ossidanti più energici. In alcuni casi, si utilizzano cellule intere, mentre in altri è preferibile impiegare enzimi isolati, ottenuti attraverso processi di ingegneria metabolica. Tuttavia, l'uso di solventi organici, che facilitano la solubilizzazione dei substrati, può risultare difficile a causa delle condizioni ristrette di pH e temperatura. Per questo si è fatto ricorso all'immobilizzazione degli enzimi, migliorando la loro stabilità ai solventi organici e prolungandone il tempo di conservazione. Inoltre, questa tecnica consente di ope-

rare in condizioni più favorevoli e in flusso continuo. Per chi è interessato ad approfondire il ruolo della biotecnologia nella bioeconomia, dal 2003 **Assobio-
tec** pubblica un rapporto annuale sulle biotecnologie in Italia. L'aggiornamento congiunturale **BiolItaly
Report 2023**, realizzato in collaborazione con ENEA, offre una panoramica aggiornata dei dati del settore e delle attività di ricerca e sviluppo. Sebbene il settore mostri segni di crescita, in Italia si investe nel biotech con un budget inferiore di nove volte rispetto ai principali Paesi europei. Eppure, come sottolineato dal prof. Moretti della Facoltà di Economia dell'Università di Berkeley, nell'industria manifatturiera, per ogni occupato nelle aree ad alta tecnologia si creano 1,6 posti di lavoro nei settori ad essa collegati.

Per citare il presidente di Federchimica/Assobiotech Fabrizio Greco, nella biotecnologia, ricerca, sviluppo, produzione e accesso a soluzioni innovative possono crescere e alimentarsi reciprocamente. È fondamentale però sviluppare competenze multidifferenziate, soprattutto tra i più giovani a livello accademico, e semplificare e rendere più efficace la collaborazione tra settore pubblico e privato, inclusi i *venture capital*, per finanziare le start-up più promettenti. Inoltre, è essenziale che i governanti garantiscano regole certe e stabili, semplificando la burocrazia e favorendo un sistema più resiliente, veloce e decisamente più attraente in termini di investimenti sostenibili ed innovativi. Ad esempio, le agevolazioni fiscali potrebbero incentivare aziende e investitori nel settore biotech, contribuendo alla crescita e all'attrattività del comparto. Solo così sarà possibile sfruttare al meglio sovvenzioni/fondi europei (come il PNRR) e identificare soluzioni condivise basate sulla consapevolezza che continuando in questo *statu quo*, con finanziamenti a pioggia o basati solo su ricerche già esistenti, l'Italia rimarrà ai margini della competizione globale, dipendente da altri Paesi, con le menti italiane più brillanti costrette ad emigrare per vedere riconosciute le proprie competenze e capacità.

Per concludere vorremmo parafrasare in parte un'affermazione di Albert Einstein: *"The significant problems we face today cannot be solved at the same level of thinking when they were created or existed"*.





**KAHLBERG
CONSULTING**

UNA VISIONE STRATEGICA, OLTRE LA NORMATIVA

REACH POLIMERI

Consorzi, Grouping, RegISTRAZIONI

PRODUCT SAFETY

(GHS; Regolamento CLP; MSDS Notifiche PCN e SCIP, SVHC)

KKDIK - REACH Turco

UK REACH

K-REACH - Corea

DB REACH Polymers

IL MIGLIOR SOFTWARE per la gestione
del vostro **PORTFOLIO POLIMERI**, per essere
pronti al Nuovo Regolamento **REACH**:

- 📁 **FORMULAZIONE**
- 📁 **GRUPPI FUNZIONALI**
- 📁 **PROPRIETÀ CHIMICO-FISICHE**
- 📁 **NOTIFICA**
- 📁 **ALTRE IMPORTANTI FUNZIONI**

in collaborazione con



Know the rules, play your market.



EUROPA - TURCHIA - UK - COREA - RESTO DEL MONDO
www.kahlbergconsulting.com



EDITORIALE

3 BIOTECNOLOGIE ROSSA E BIANCA

Oreste Piccolo, Adalgisa Sinicropi

ATTUALITÀ

9 IL PROF. FRANCESCO DE ANGELIS NOMINATO SOCIO ONORARIO DELLA SCI

Gianluca Maria Farinola

FOCUS SULL'INDUSTRIA CHIMICA

10 I BIOSTIMOLANTI, ADDITIVI DEI FERTILIZZANTI

Ferruccio Trifirò

CHIMICA & BIOTECNOLOGIE

12 LACCASI: ENZIMI DALLE MILLE RISORSE

Nunzio Cardullo, Claudia Sciacca, Vera Muccilli

18 I BIOSURFATTANTI

Andrea Graziani

23 ANTICORPI E VACCINI: DUE FACCE DELLA STESSA MEDAGLIA

Francesco Nannini, Ceren Gul, Rino Rappuoli,
Claudia Sala

28 LE CHETOREDUTTASI: BIOCATALIZZATORI EFFICIENTI PER LA SINTESI DI ALCOLI CHIRALI

Antonella Petri, Daria Armani, Chiara Rosati,
Oreste Piccolo

34 INTELLIGENZA ARTIFICIALE E MEDICINA DI PRECISIONE A SALVAGUARDIA DEL BENESSERE UMANO

Alfonso Trezza

39 TRE PROGETTI EUROPEI PER REALIZZARE BIOCATALIZZATORI PER OSSIDAZIONI NELL'INDUSTRIA

Ferruccio Trifirò

CHIMICA & MATERIALI

42 LEGNO E BAMBÙ TRASPARENTI

Saverio Russo

47 PROGETTO REACH4TEXTILES E VIGILANZA DEL MERCATO TESSILE EUROPEO

Barbara Cravello, Marco Piu

CHIMICA & TERMODINAMICA DEI COMPLESSI

52 ISMEC 2024 AND THE 17TH EDITION OF THE FERNANDO PULIDORI PRIZE

Maria Rosa Beccia

CHIMICA & TERMODINAMICA DEI COMPLESSI

55 STUDYING NEUROMELANIN SYNTHESIS BY PCA

Lisa Rita Magnaghi

CHIMICA & ETICA

58 L'INTELLIGENZA ARTIFICIALE NELLE SCIENZE MEDICHE

Luigi Campanella, Valerio Sanguigni

PAGINE DI STORIA

62 LIEBIG E KEKULÉ E IL GIALLO DELLA CONTESSA GÖRLITZ

Paolo Cardillo

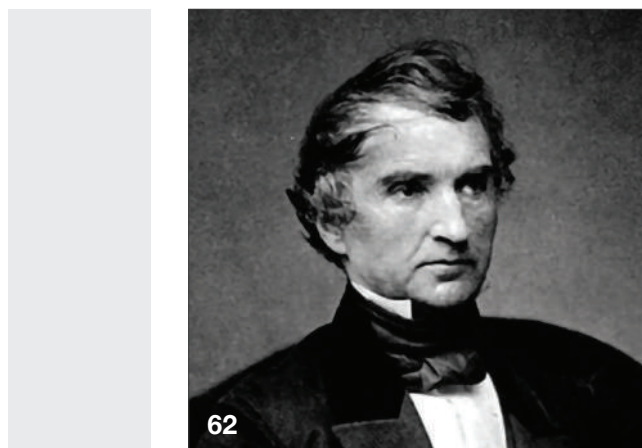
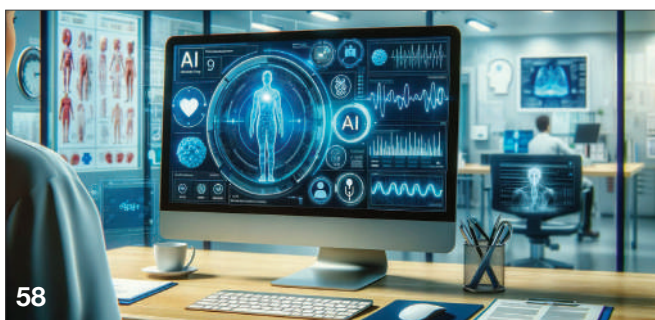
DALLA LETTERATURA

64 a cura di Silvia Cauteruccio e Monica Civera

LA CHIMICA ALLO SPECCHIO

67 BIOTECNOLOGIE E CHIMICA

Claudio Della Volpe



 **Chimica e Industria online**
Organo Ufficiale della Società Chimica Italiana

DIRETTORE RESPONSABILE

Matteo Guidotti

VICE-DIRETTORE

Mario Marchionna

REDAZIONE SCIENTIFICA

Anna Simonini
Piazzale R. Morandi, 2 - 20121 Milano - tel. +39 345 0478088
anna.simonini@soc.chim.it

COMITATO DI REDAZIONE

Catia Arbizzani, Tiziano Bandiera, Silvia Bordiga, Franco Calascibetta,
Martino Di Serio, Matteo Guidotti, Mario Marchionna,
Carmela Maria Montone, Oreste Piccolo, Anna Simonini,
Adalgisa Sinicropi, Ferruccio Trifirò

COMITATO SCIENTIFICO

Alessandro Abbotto, Eleonora Aquilini, Giuliana Bianco,
Maria Laura Bolognesi, Luigi Campanella, Sergio Carrà,
Mario Chiesa, Silvia Colombo, Claudio Greco, Gaetano Guerra,
Alessandra Magistrato, Piero Mastroianni,
Moreno Meneghetti, Paola Minghetti, Luigi Mondello,
Nadia Mulinacci, Antonio Proto, Monica Santamaria, Raffaele Riccio

DIRETTORE ONORARIO

Ferruccio Trifirò

HANNO COLLABORATO

Claudio Della Volpe,
Silvia Causeruccio, Monica Civera

PROGETTO GRAFICO E IMPAGINAZIONE

Sara Moscardini

CONCESSIONARIA DI PUBBLICITÀ

Agicom Srl
Viale Caduti in Guerra, 28 - Castelnuovo di Porto (Roma)
Tel. +39 06 9078285, fax +39 06 9079256
domiciacipriani@agicom.it
Skype: agicom.advertising

EDITORE

PAS-SCI Srl
Roma

Reg. Tribunale di Milano n. 134 del 11/04/2017

ISSN 2283-544X

http://www.soc.chim.it/riviste/chimica_industria/catalogo



 KELLER

HYDROGEN PRESSURE TRANSMITTERS

WE. DEVELOP. FUTURE.

H_2



23SY-Ei-H2

KELLER H2-PORTFOLIO

- Different accuracy classes depending on application
- Selected stainless steel alloy for minimal material embrittlement
- Gold-plated diaphragm to reduce H2 diffusion
- Metal-to-metal seal process connection
- Fully welded construction, no elastomer in contact with the medium
- Excellent long-term stability and durability
- ATEX-certified

[keller-pressure.com](https://www.keller-pressure.com)

IL PROF. FRANCESCO DE ANGELIS NOMINATO SOCIO ONORARIO DELLA SCI



Lo statuto della nostra associazione (art. 3, comma 2) recita: “La nomina dei Soci Onorari a vita è riservata a persone di riconosciuto valore scientifico che in Italia e all’estero abbiano notoriamente contribuito allo sviluppo della Chimica e/o delle sue applicazioni”.

Di fatto, essere Socio Onorario della SCI è un riconoscimento molto raro: il Regolamento stabilisce che questo *status* privilegiato sia limitato a sole 25 persone, delle quali non più di 5 italiane. Ad oggi, i nostri Soci onorari sono solamente due. Uno di loro è fresco di nomina: Francesco De Angelis, dichiarato Socio Onorario dall’Assemblea Generale della SCI tenutasi al nostro XXVIII Congresso Nazionale, lo scorso 27 agosto. Francesco De Angelis corona così uno straordinario percorso di servizio nella Società Chimica Italiana, fatto di contributi talmente importanti nel far crescere la nostra associazione e nel cambiarne il volto, da meritargli questo raro riconoscimento.

Francesco De Angelis, professore ordinario di Chimica Organica all’Università dell’Aquila dal 2001 al 2019, con interessi scientifici principali nel campo della spettrometria di massa e delle sostanze naturali, dopo aver ricoperto numerose cariche nella *governance* della SCI ne è stato Presidente per il triennio 2005-2007. Tuttavia i suoi ruoli non si sono limitati allo scenario nazionale: è stato membro del comitato esecutivo (2010-2017) e tesoriere (2010-2016) di EuChemS, e Presidente dell’European Chemistry Thematic Network (ECTN) Association (2013-2015).

La sua attività in questi contesti è sempre stata animata da alto spirito di servizio e da una straordinaria capacità di condurre efficaci azioni di cambiamento. Tra queste, la più importante per la vita della SCI, ricca di implicazioni culturali, oltre che fondamentali per il sostegno economico della Società Chimica Italiana, è stata la creazione di ChemPubSoc Europe, oggi Chemistry Europe, attraverso un percorso nel quale Francesco De Angelis ha giocato un ruolo fondamentale. Sedici società chimiche europee appartenenti a quindici diversi Paesi si sono associate, in partnership con Wiley-VCH e, condividendo le proprie riviste nazionali (*La Gazzetta Chimica Italiana* e *Il Farmaco* per la SCI), hanno dato vita alla pubblicazione di (ad oggi) 20 giornali. Un’operazione complessa e lungimirante che ha permesso la nascita delle riviste internazionali di Chemistry Europe e del magazine online *Chemistry Views*. Riviste di alto valore scientifico che, oltre all’aspetto proprietario, rappresentano una forte espressione unitaria dei valori europei della ricerca in chimica, nei quali la SCI si identifica. Francesco De Angelis è tra padri fondatori di questa iniziativa, ed è grazie a lui se la Società Chimica Italiana siede di diritto nel Council di Chemistry Europe, rappresentando una delle voci autorevoli tra le società proprietarie.

Il Prof. Francesco De Angelis è un esempio straordinario di servizio alla Società Chimica Italiana e, più in generale, alle società chimiche europee, distinguendosi per visioni lungimiranti e grandi capacità di tradurle in realtà solide, attraverso azioni intelligenti, sempre accompagnate dal suo tatto e dalla sua eleganza. Il Prof. De Angelis non è nuovo a riconoscimenti importanti, ed è impossibile elencarli tutti qui. Tra questi, la Medaglia d’oro “Domenico Marotta” della Società Chimica Italiana (2011), la Honorary Fellowship di ChemPubSoc Europe (Chemistry Europe) (2015) e l’EuChemS Service Award (2018).

La SCI, tra gli applausi che gli sono stati tributati nella grande Assemblea generale dei Soci del Congresso di Milano 2024, lo accoglie come Socio Onorario in un simbolico abbraccio, con affetto e con riconoscenza. Auguri da tutti noi, caro Francesco.

I BIOSTIMOLANTI, ADDITIVI DEI FERTILIZZANTI

I biostimolanti sono sostanze o microrganismi che, applicati alle piante o al suolo, migliorano l'assorbimento dei nutrienti, stimolano la crescita naturale e incrementano la resa delle colture. Nel 2024, l'uso dei biostimolanti ha acquisito una crescente popolarità tra gli agricoltori al fine di rendere più sostenibili ed efficienti le loro pratiche agricole [1-5]. Questi prodotti possono derivare da varie fonti, tra cui estratti vegetali, acidi umici, microrganismi benefici e composti biochimici.

I biostimolanti si suddividono in tre categorie principali: microbici, non microbici e composti.

I biostimolanti microbici includono batteri e funghi capaci di stimolare la crescita delle piante mediante la produzione di fitormoni o la solubilizzazione dei nutrienti presenti nel suolo.

I biostimolanti non microbici, invece, provengono da piante, alghe o sostanze organiche e possono contenere fitormoni, acidi umici o altre molecole bioattive.

Infine, i biostimolanti composti comprendono sia prodotti chimici sintetici che naturali, i quali influenzano direttamente la fisiologia delle piante.

L'adozione dei biostimolanti è in rapida espansione, grazie ai loro numerosi benefici nell'ambito dell'agricoltura sostenibile. Oltre a favorire la riduzione dell'uso di fertilizzanti chimici e agrofarmaci (pesticidi), essi migliorano la salute delle piante e la qualità del raccolto. Un ulteriore vantaggio è la capacità di aumentare la resilienza delle colture agli stress ambientali, contribuendo così a mitigare gli effetti negativi dei cambiamenti climatici sull'agricoltura. Tra le sostanze biostimolanti più utilizzate vi sono gli estratti di alghe, noti per le loro proprietà benefiche. Le sostanze umiche, anch'esse tra le più impiegate, sono macromolecole organiche complesse derivanti dalla decomposizione della materia organica e dall'attività metabolica dei microrganismi. Gli idrolizzati proteici, invece, contengono una miscela di amminoacidi e peptidi solubili e possono provenire da fonti animali o vegetali, come residui della lavorazione del cuoio (collagene), dell'in-

dustria ittica o biomasse vegetali leguminose. Secondo la definizione fornita dall'European Biostimulant Industry Council (EBIC) [6]: "I biostimolanti vegetali sono prodotti che contengono una o più sostanze e/o microrganismi la cui funzione, quando applicati alle piante o alla rizosfera, è stimolare i processi naturali per aumentare/favorire l'assorbimento dei nutrienti, l'efficienza nutrizionale, la tolleranza agli stress abiotici e la qualità della coltura indipendentemente dal loro contenuto di nutrienti".

Alcuni biostimolanti presenti sul mercato in Italia

Di seguito vengono presentati alcuni biostimolanti disponibili sul mercato italiano, con i rispettivi nomi commerciali, che consentono di ottenere ulteriori informazioni:

- Kelpak: estratto di alghe brune ottenuto dalla specie *Ecklonia maxima*, che cresce naturalmente nelle acque dell'Oceano Atlantico sud-occidentale. Grazie a una tecnologia brevettata, vengono preservate le molecole bioattive delle alghe, come poliammine, florotannini, brassinosteroidi, alginati e amminoacidi, che modulano positivamente la fisiologia delle colture.
- Phyllamin Veg: contiene acidi umici e fulvici, oltre a fitormoni come auxine e citochinine, naturalmente presenti. Arricchito con amminoacidi e peptidi, favorisce uno sviluppo equilibrato dell'apparato fogliare nelle applicazioni fogliari, riducendo il rischio di danni da gelate. In fertirrigazione, stimola lo sviluppo delle radici e migliora l'assorbimento dei nutrienti.
- SilEnergy: estratto vegetale a base di torba neutra, ricco di acidi umici e fulvici. Stimola la crescita dell'apparato radicale, rinvigorisce le piante e aumenta la quantità di materia secca nei tessuti vegetali, migliorando l'assorbimento di macro e microelementi.



- Soil Activator: caratterizzato da un elevato contenuto di umina, una sostanza organica a lenta degradazione con un'alta capacità di ritenzione idrica, che aiuta la pianta a resistere agli stress idrici e favorisce l'assorbimento dei nutrienti.
- ABYSS PRO: a base di estratti di alghe brune ottenuti con metodi di estrazione naturali, certificati per l'assenza di contaminanti e metalli pesanti. Supporta la pianta durante la fioritura, l'allegagione (fase iniziale dello sviluppo del frutto), la moltiplicazione e la distensione cellulare durante la formazione del frutto.
- Betamin: composto da amminoacidi vegetali e alghe, stimola l'assorbimento dei nutrienti e l'efficienza fotosintetica, migliorando sia la qualità sia la quantità delle produzioni.
- Activeg: biostimolante ottenuto dall'idrolisi enzimatica della biomassa di Fabaceae, contiene 1-tricontanolo (un alcol grasso con la formula $C_{30}H_{62}O$) e amminoacidi levogiri. Migliora l'utilizzo dell'azoto, riducendo l'accumulo di nitrati nei tessuti vegetali.
- Traik: biofertilizzante unico che combina micorrize e microrganismi, favorisce la crescita radicale e vegetativa delle piante, rafforzandone la resistenza attraverso l'attivazione dei loro meccanismi di difesa naturale.
- Algaspring: idrolizzato proteico vegetale ottenuto dalla microalga *Chlorella* e dalla macroalga *Ascophyllum*. Stimola i processi naturali della pianta, favorendo l'assorbimento dei nutrienti e la tolleranza agli stress idrici e abiotici, migliorando la qualità delle colture.
- Megafol: composto da un mix di vitamine, amminoacidi, proteine e betaine. Favorisce uno sviluppo vegetativo e produttivo equilibrato e, se applicato durante situazioni di stress (gelate, asfissia radicale, diserbi, grandinate), aiuta la pianta a superare rapidamente gli arresti di crescita.
- Optimaris: prodotto ad alta concentrazione di elementi bioattivi estratti dall'alga *Ascophyllum nodosum*. Riduce l'impatto degli stress abiotici, come siccità, freddo e caldo eccessivi, a cui le colture sono spesso esposte.
- Optitrac: formulazione liquida per applicazioni fogliari contenente nutrienti e composti bioattivi estratti dall'alga *Ascophyllum nodosum*. Riduce gli effetti di stress come siccità e temperature estreme, stimolando la fioritura e l'allegagione e migliorando la resa quantitativa e qualitativa.
- Biostim Plus: prodotto fluido con azione biostimolante, contenente acido *N*-acetil-tiazolidina-4-carbossilico (ATCA) e glicin-betaina. Migliora le fasi di crescita successive, favorendo lo sviluppo dei frutti e incrementando le qualità organolettiche alla raccolta, oltre alla resa complessiva.

BIBLIOGRAFIA

- [1] **Biostimolanti in agricoltura: cosa sono e come agiscono | ADAMA Italia**
- [2] **Biostimolanti, un settore in crescita: presente e futuro - Fertilizzazione - AgroNotizie**
- [3] **Biostimolanti, microbici per un'agricoltura sostenibile | Microbiologia Italia**
- [4] **Biostimolanti ed Europa: il Manifesto 2024 di Ebic - Fertilizzazione - AgroNotizie**
- [5] A. Liviero, Il vino biologico in Veneto, www.venetoagricoltura.org
- [6] **EBIC -The European Biostimulants Industry Council - AgroNotizie**



LACCASI: ENZIMI DALLE MILLE RISORSE

Le laccasi, sono enzimi che catalizzano l'ossidazione dei substrati aromatici attraverso la riduzione dell'ossigeno molecolare e formazione di acqua come unico sottoprodotto. L'interesse per le reazioni mediate dalle laccasi risiede nella loro capacità di operare in condizioni blande ed ecocompatibili. Per questi motivi, tali reazioni sono degli strumenti preziosi per la chimica verde con svariate applicazioni in campo sintetico ed industriale.

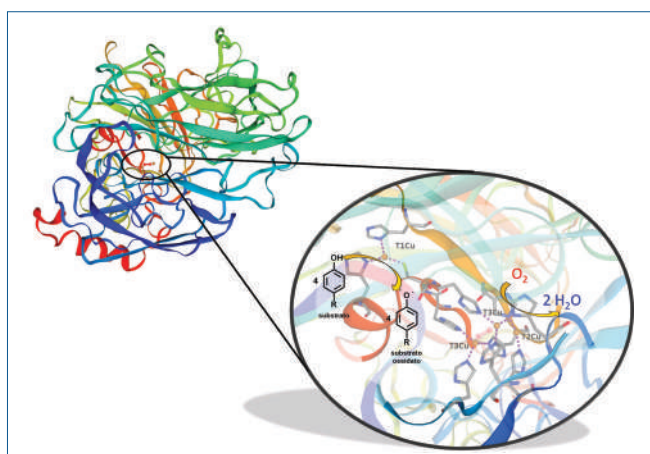


Fig. 1 - Struttura 3D della laccasi da *Trametes versicolor* (Uniprot Q12717) e schema del processo ossidativo del fenolo all'interno del sito catalitico

Introduzione

Le laccasi (benzenediolo: ossigeno ossidoreduttasi, EC 1.10.3.2) sono un gruppo di enzimi in grado di ossidare una vasta tipologia di molecole e in grado di esplicare l'azione catalitica senza la presenza di cofattori. La prima laccasi fu isolata nel 1883 in *Rhus vernicifera* dall'albero della lacca giapponese *Toxicodendron vernicifluum* e, da allora, le laccasi sono state identificate in diverse specie di piante superiori. Le fonti principali di laccasi sono i funghi che le impiegano per la degradazione ossidativa della lignina, gli insetti e più di 20 specie batteriche. Più in dettaglio, le laccasi ossidano substrati aromatici, principalmente in *orto* e in *para*-difenolici, amminofenoli, polifenoli, poliammine, arilammine e alcuni sali inorganici, attraverso la riduzione dell'os-

sigeno molecolare in acqua, che è l'unico sottoprodotto di reazione [1]. In questo processo ossidativo gli elettroni sono trasferiti dal substrato organico all'ossigeno per mezzo di due siti distinti: nel sito mononucleare T1Cu avviene l'ossidazione mono-elettronica di quattro unità di un dato substrato, gli elettroni migrano al cluster trinucleare T2Cu/T3aCu/T3bCu e sono impiegati per la riduzione dell'ossigeno molecolare a due molecole di acqua (Fig. 1). Il tipo di ligando assiale, la sfera di coordinazione e l'accessibilità del solvente al T1Cu influenzano il potenziale redox delle varie laccasi. Gli enzimi presenti in batteri, piante e insetti, sono enzimi a basso potenziale redox, ($E^0 = 340-490$ mV), con un uso che può essere limitato ai substrati fenolici; al contrario, le laccasi fungine possiedono nel sito T1 un potenziale redox più elevato ($E^0 = 500-800$ mV) e pertanto possono esplicare l'azione catalitica verso una più ampia scelta di substrati. Le laccasi fungine

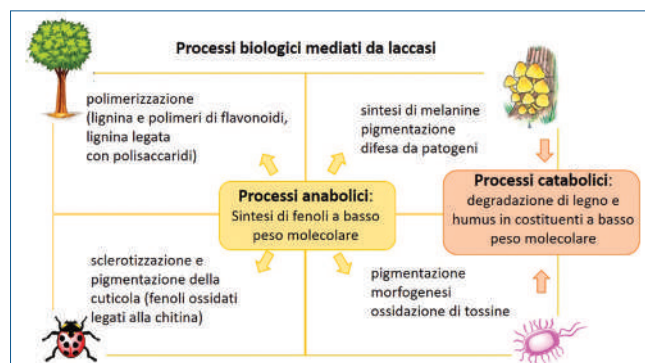


Fig. 2 - Processi biosintetici mediati dalle laccasi. Riproduzione da [2] con il permesso della Royal Society of Chemistry



hanno una stabilità termica inferiore rispetto a quelle batteriche, che sono più attive e più stabili in condizioni estreme come pH elevato, alte temperature e alte concentrazioni di ioni rame e cloruro.

Reazioni mediate da laccasi: azione catalitica in natura e processi biosintetici

Le laccasi in natura esplicano un'azione catalitica sia in processi anabolici che catabolici (Fig. 2) [2]. Nelle tipiche reazioni anaboliche, i fenoli a basso peso molecolare sono ossidati a intermedi radicalici e/o chinonici, e promuovono la biosintesi di vari dimeri per accoppiamento radicalico, tra cui lignani e composti correlati (neolignani) quando le molecole di partenza sono i fenilpropanoidi (Fig. 3). Questi composti, biosintetizzati per accoppiamento di radicali 8-8' (lignani) o accoppiamento di radicali in cui l'elettrone è localizzato su altre posizioni, 8-5', 5-5' o 8-O-4' (neolignani), presentano un'ampia diversità e complessità strutturale, nonché numerose proprietà biologiche: antiossidante, antibatterica, anti-infiammatoria, antitumorale, neuro- e cardioprotettiva. I dimeri così prodotti contengono ancora funzioni fenoliche, possono formare altri radicali e produrre oligomeri e polimeri mediante accoppiamenti intra/intermolecolari. Lignina, polimeri di flavonoidi, melanine, chinoni legati a proteine cuticolari ecc. sono tipici prodotti polimerici. I processi catabolici mediati dalle laccasi includono invece la depolimerizzazione della lignina/lignocellulosa, la degradazione dell'humus.

Alcuni composti dimerici naturali sono diventati agenti chemioterapici. Esempi includono (Fig. 4):

- l'antitumorale 3',4-di-O-metilcedrusina, che ha ispirato la sintesi di altri agenti antitumorali;
- la podofillotossina, un antimicotico la cui ottimizzazione ha portato al farmaco anticancro etoposide;
- l'ipericina, un pigmento antrachinonico naturale

utilizzato nel trattamento di diversi tipi di cancro e con attività antimicrobica;

- il gossipolo, un potenziale agente terapeutico per il trattamento di tumori resistenti e malattie croniche.

Le laccasi si sono rivelate utili biocatalizzatori nella sintesi ecocompatibile di composti bioattivi. La sfida dei chimici organici in tal senso è applicare le stesse reazioni che normalmente avvengono in natura su un più ampio numero di reagenti, nonché aumentare l'attività e la stabilità di questi enzimi. Diversi parametri possono influenzare le prestazioni e la stabilità delle laccasi, tra cui pH, temperatura e solvente; inoltre, a parità di enzima, le diverse condizioni di reazione possono produrre diversi prodotti di reazione. L'intervallo di pH a cui le laccasi svolgono la loro attività varia da 7,0 a 4,5 e può aumentare fino a pH 9 per alcune di esse.

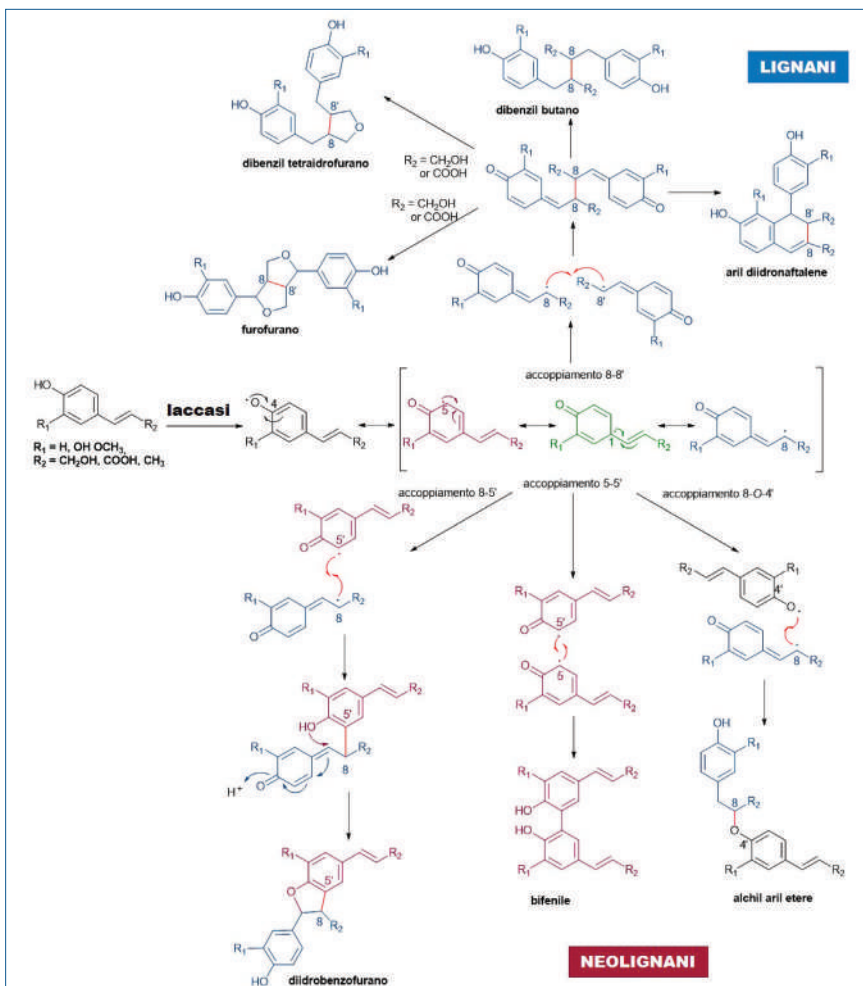


Fig. 3 - Biosintesi di lignani e neolignani per ossidazione e accoppiamento radicalico di fenilpropanoidi. Riproduzione da [2] con il permesso della Royal Society of Chemistry

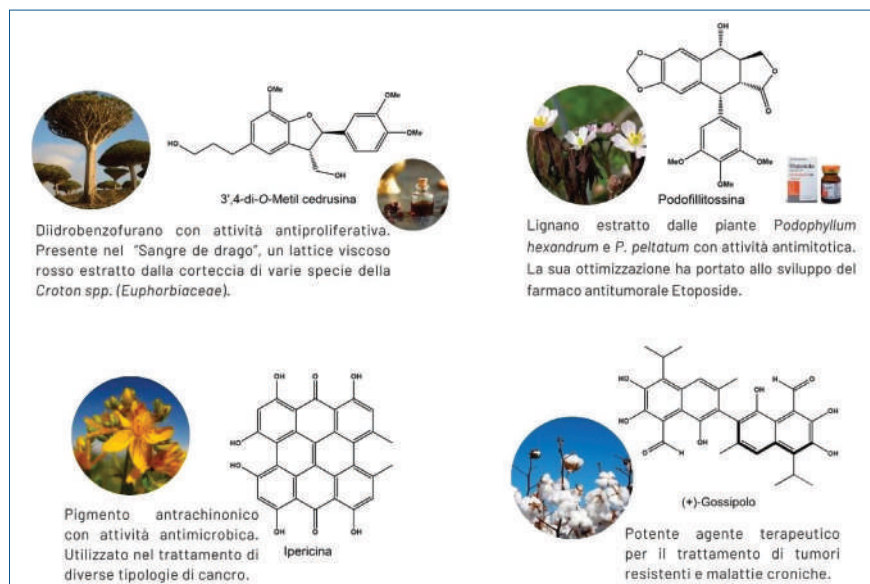


Fig. 4 - Composti naturali ottenuti dall'azione catalitica delle laccasi con attività terapeutica o promettenti attività biologiche

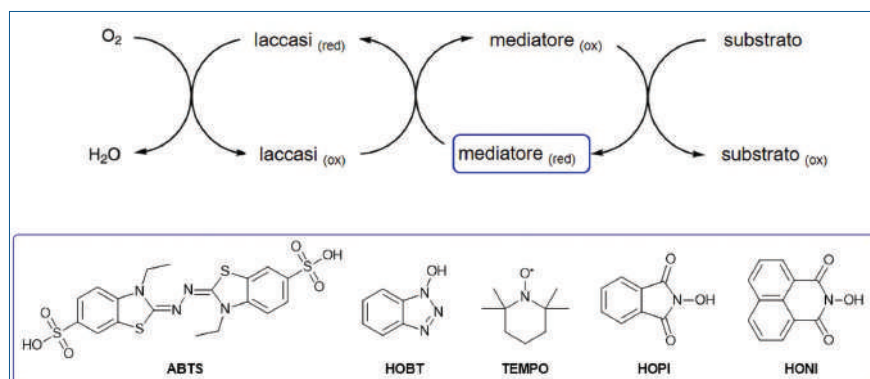


Fig. 5 - Meccanismo redox di laccasi in presenza di mediatori: acido 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-solfonico) (ABTS), radicale 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinil ossile (TEMPO), 1-idrossibenzotriazolo (HOBT), N-idrossifitalimmide (HOPI) e N-idrossinaftalimmide (HONI)

Inoltre, la temperatura ottimale varia da 50 °C a 70 °C e poche laccasi sono impiegate a temperature inferiori a 35 °C. Molto spesso queste reazioni possono essere eseguite in presenza di solventi organici, utili per dissolvere substrati idrofobici, senza ridurre significativamente l'attività dell'enzima. In alcuni casi, il solvente può esercitare effetti stabilizzanti su un radicale specifico, promuovendo così la formazione di un prodotto con alta selettività. I liquidi ionici rappresentano un'alternativa ai comuni solventi organici molecolari, avendo vantaggi come idrofobicità e miscibilità con l'acqua modulabili, alta solubilità degli enzimi, tensione di vapore trascurabile e buona stabilità termica. La

vera innovazione è rappresentata dall'utilizzo di solventi eutettici naturali (NADES) per le loro caratteristiche "green". In particolare, gli eutettici a base di betaina hanno mostrato le migliori caratteristiche per la stabilità delle laccasi a temperature più elevate, migliorando così l'efficacia dell'enzima.

Molecole organiche che richiedono un E⁰ maggiore di quello delle laccasi possono essere ossidate in presenza di mediatori aumentando così la gamma dei substrati modificabili (Fig. 5). Ad esempio, le laccasi (E⁰ = 440-790 mV) ossidano l'ABTS (E⁰ = 690 mV) generando il catione radicalico ABTS^{•+} che si evolve spontaneamente nel dicatione ABTS²⁺ (E⁰ = 1100 mV). Esso migra dal sito attivo dell'enzima e può estrarre un radicale idrogeno da un substrato ad alto valore di E⁰, ossidandolo. Queste specie sono utilizzate per l'ossidazione di alcoli attivati a chetoni o aldeidi, o per la degradazione industriale della lignina.

Ad oggi, le laccasi sono state sfruttate per diverse trasformazioni chimiche (Fig. 6), incluso l'accoppiamento ossidativo di una vasta gamma di substrati fenolici e diamminici per ottenere composti dimerici. Un approccio alternativo nell'uso delle laccasi nella sintesi fine è la conversione di gruppi fenolici, presenti anche in ormoni steroidei e alcaloidi, in intermedi elettrofili reattivi, tramite formazione di chinoni. Benzimidazoli, benzotiazoli, chinazolinoni, fenazine e fenossazinoni con attività biologica si ottengono mediante reazioni di ciclo-condensazione, addizione di Michael o Diels-Alder in presenza di chinoni generati *in situ* dalle laccasi (Fig. 6) [2-4]. Ad esempio, l'addizione di Michael di ammine primarie in presenza di intermedi chinonici prodotti per azione della laccasi da *Myceliophthora thermophila* e *Trametes* sp. può generare nuovi antibiotici β-lattamici e cefalosporine [4].

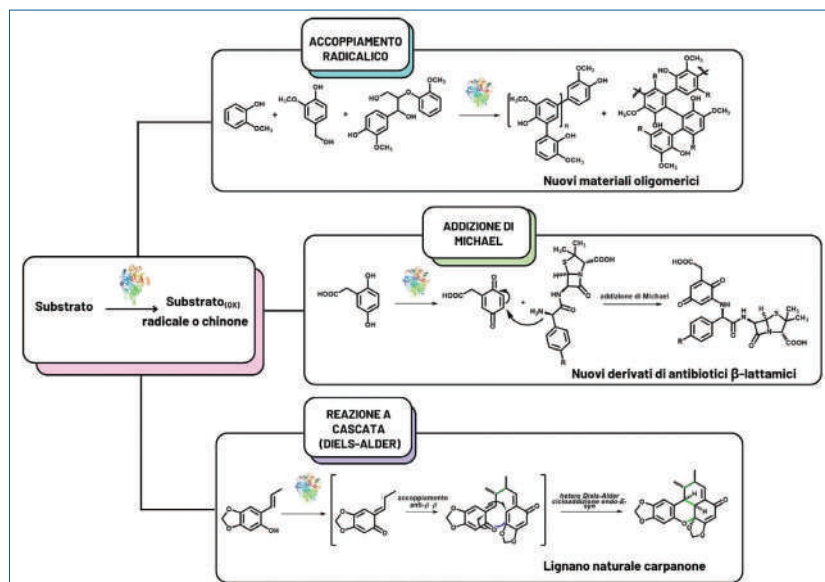


Fig. 6 - Esempi di trasformazioni mediate da laccasi per sintesi biomimetiche di molecole organiche: carpanone [3], nuove penicilline [4] e nuovi materiali oligomerici [5]

Le laccasi mostrano utilizzi differenti che vanno dallo sfruttamento di biomasse per la produzione di biocombustibili alla lavorazione della carta, dall'ottenimento di polimeri biocompatibili all'ottenimento di nuovi prodotti di valore aggiunto a partire dalla lignina, dalla stabilizzazione dei cibi nell'industria alimentare alla produzione di bio-colori nel settore tessile, dal biorisanamento delle acque allo sviluppo di biosensori (Fig. 7) [6].

La lignina è un polimero naturale poco utilizzato a causa della sua struttura complessa, dell'alto peso molecolare, dell'elevata rigidità strutturale e dell'incompatibilità con altri polimeri. Un'economia sostenibile basata su bioraffinerie lignocellulosiche per produrre biocarburanti, bioetanolo di seconda

Laccasi: biocatalizzatori per uso industriale

Il successo delle laccasi come biocatalizzatori nelle applicazioni industriali è dovuto alla loro grande adattabilità. Il primo enzima industriale è stato sviluppato nel 1996 da Novozyme (DeniLite®).

generazione e composti chimici è cruciale per sostituire l'industria dei combustibili fossili. La lignina ostacola l'accesso ai carboidrati e favorisce l'adsorbimento aspecifico degli enzimi idrolitici durante i processi di conversione della biomassa. Le laccasi

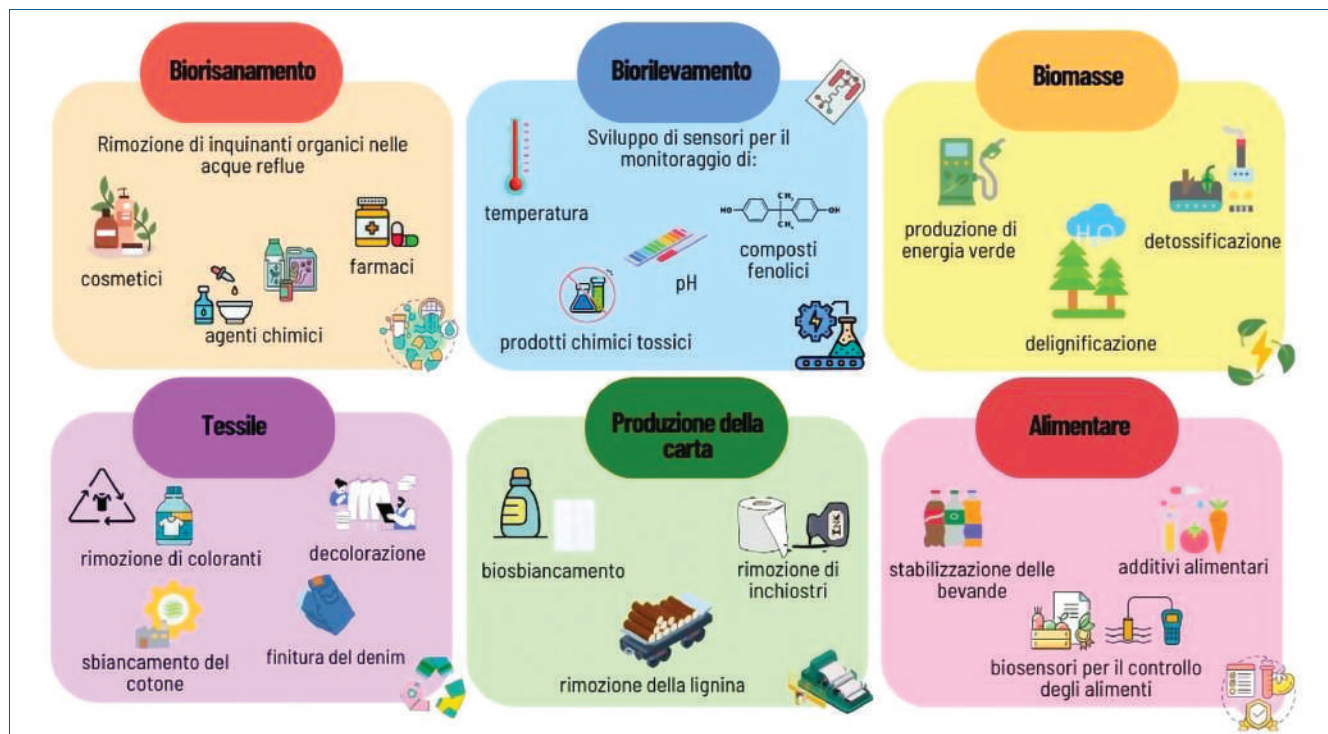


Fig. 7 - Applicazioni industriali delle laccasi

possono modificare o eliminare parzialmente la lignina nella biomassa pretrattata, migliorando l'idrolisi enzimatica dei carboidrati, rendendole uno strumento biotecnologico chiave per sfruttare la biomassa cellulosa per la produzione di biocarburanti.

Gli scarti delle industrie agricole e alimentari spesso contengono composti fenolici, pH basso, alti livelli di COD e BOD, rendendo complesso un trattamento unico con microrganismi. I trattamenti enzimatici, invece, risultano più adatti. Le laccasi sono utilizzate principalmente per trattare acque reflue di frantoi oleari, distillerie, birrifici e per la delignificazione dei residui agroalimentari. Nel processo di lavorazione delle bevande, i trattamenti enzimatici vengono applicati per migliorare o modificare l'aspetto del colore. Nell'industria della birra, l'utilizzo delle laccasi non solo fornisce stabilità, ossidando le proantocianidine naturalmente presenti e responsabili della torbidità, ma aumenta la sua conservazione a seguito della rimozione dell'ossigeno in eccesso. Nel processo di vinificazione, biosensori a base di laccasi sono utilizzati per il controllo del contenuto di polifenoli. Inoltre, questi enzimi sono impiegati nella creazione di una classe speciale di vini nota come "Noble Rot".

Questi biocatalizzatori sono impiegati nell'industria delle tinture tessili con un ruolo duplice: per la biodegradazione dei coloranti sintetici (es. ossidazione enzimatica del colorante indaco) e per la produzione di nuovi prodotti colorati (dal marrone/giallo al blu e rosso) attraverso l'ossidazione dei derivati del benzene con almeno due sostituenti (ad esempio gruppi idrossilici, amminici, metossilici). Nella colorazione dei capelli, le laccasi rappresentano dei bio-ossidanti alternativi ed evitano l'uso di perossido di idrogeno e fenilendiammine, spesso irritanti, allergeniche e cancerogene.

Le laccasi hanno dimostrato un notevole potenziale nel biorisanamento per il trattamento degli effluenti industriali, con la capacità di ossidare efficacemente una varietà di inquinanti organici presenti nelle acque reflue: bisfenolo A e i suoi derivati, bifenili policlorurati, diossine e altri composti fenolici, noti come mutageni e interferenti endocrini. La rimozione di queste sostanze chimiche pericolose avviene tramite dealogenazione mediata da radicali e/o polimerizzazione ossidativa, con la conseguente forma-

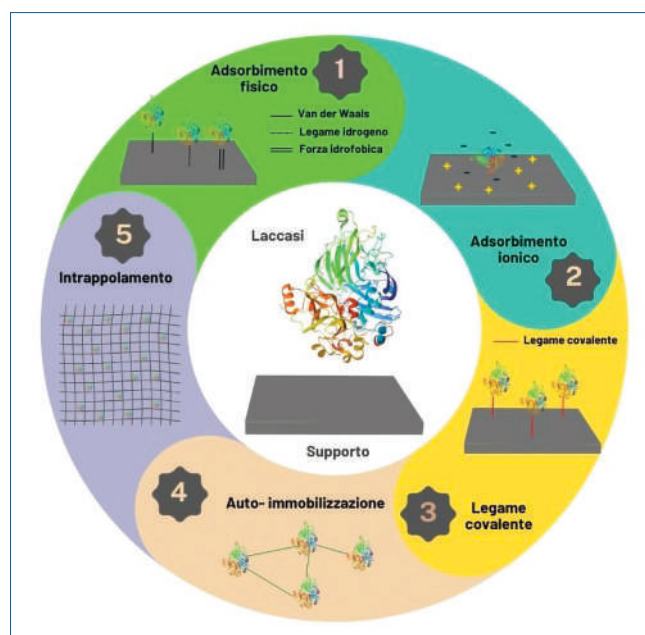


Fig. 8 - Tecniche di immobilizzazione delle laccasi

zione di composti con tossicità e solubilità in acqua notevolmente ridotte e facili da rimuovere. Inoltre, è stato provato che le laccasi degradano vari prodotti farmaceutici, con particolare attività su steroidi e antibiotici.

L'utilizzo delle laccasi si estende anche verso la modifica e/o la reticolazione di materiali polimerici al fine di ottenere materiali con nuove o migliorate proprietà/applicazioni. La lignocellulosa sottoposta a trattamenti con laccasi può fornire nuovi prodotti con stabilità chimica e/o meccanica superiori, nonché biomateriali con attività antimicrobica e antiossidante. L'azione delle laccasi su polisaccaridi (cellulosa, chitina ecc.) è in grado di produrre materiali da funzionalizzare.

Nonostante i numerosi vantaggi associati all'uso delle laccasi, esistono alcune limitazioni dovute all'instabilità enzimatica in diverse condizioni quali pH, forza ionica e temperatura, proteolisi, inattivazione da parte di inibitori, alla difficoltà di separare l'enzima dalla miscela di reazione e al suo riutilizzo. L'immobilizzazione è la chiave per ottimizzare le prestazioni operative delle laccasi nei processi industriali e in particolare nei mezzi non acquosi, in modo da aumentare il potenziale utilizzo dell'enzima, ottenere il suo riutilizzo e incrementarne la stabilità [7]. Uno schema dei più comuni metodi di immobiliz-



zazione è riportato in Fig. 8 e vari articoli riportano le principali applicazioni soprattutto nell'ambito del biorisanamento delle acque [8, 9].

Le ultime ricerche puntano quindi a trasferire il *know-how* di laboratorio ai processi industriali per sviluppare soluzioni di chimica verde. La principale sfida del futuro pertanto è ridurre i costi di produzione delle laccasi per l'utilizzo su larga scala. I recenti progressi nella bioingegneria e immobilizzazione delle laccasi ne migliorano efficienza, stabilità e riciclo, aprendo la strada a nuove applicazioni nei prossimi anni e allo sviluppo di nuove piattaforme biocatalitiche.

BIBLIOGRAFIA:

[1] P. Giardina, V. Faraco *et al.*, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2010, **67**, 369.

- [2] N. Cardullo, V. Muccilli *et al.*, *RSC Chemical Biology*, 2022, **3**, 614.
[3] M.A. Constantin, J. Conrad *et al.*, *The Journal of Organic Chemistry*, 2012, **77**, 4528.
[4] A. Mikolasch, K. Manda *et al.*, *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2012, **59**, 269.
[5] J. Lim, B. Sana, *et al.* *Chemistry an Asian Journal*, 2018, **13**, 284.
[6] Y.R. Maghraby, R.M. El-Shabasy *et al.*, *ACS Omega*, 2023, **8**, 5184
[7] S. Aggarwal, A. Chakravarty *et al.*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, **167**, 962
[8] W. Zhou, W. Zhang, *et al.*, *Chemical Engineering Journal*, 2021, **403**, 126272.
[9] Z. Chen, W.D. Oh *et al.*, *Chemosphere*, 2022, **307**, 135824.

 Polisystem Informatica S.r.l.
Soluzioni Software per i Laboratori prove



SCOPRI DI PIÙ

MODULO BASE

Specifiche / Contratti	Accettazione / Lotti Ispettivi	Fogli di Lavoro - Input dati	Automazione Calcoli - SOP Logiche Formule	Controllo S.A.L. Campioni	Verifica / Approvazione / Firma Dig.	Risultati (RdP / CoA)	Log - Audit Trail	Gestione Documenti	Email Integrate
------------------------	--------------------------------	------------------------------	---	---------------------------	--------------------------------------	-----------------------	-------------------	--------------------	-----------------



I BIOSURFATTANTI

I tensioattivi microbici costituiscono un gruppo diversificato di molecole note per una varietà di strutture chimiche, come glicolipidi, lipopeptidi e lipoproteine, acidi grassi, lipidi neutri, fosfolipidi e strutture polimeriche e particellari. Sono promettenti alternative ai tensioattivi sintetizzati chimicamente grazie alla loro minore tossicità, alla maggiore biodegradabilità e, quindi, alla maggiore compatibilità ambientale.

Il termine *tensioattivo* deriva dal termine inglese *surfactant*, **surface active agent**. I tensioattivi sono di solito composti organici anfifilici, cioè contengono sia gruppi idrofobici, le loro “code”, che gruppi idrofili, le loro “teste”. Pertanto, sono solubili sia in solventi organici che in acqua. Il termine *surfactant* è stato coniato da Antara Products Inc. nel 1950. I tensioattivi riducono la tensione superficiale dell’acqua adsorbendo all’interfaccia liquido-gas. Riducono anche la tensione interfacciale tra olio e acqua adsorbendo all’interfaccia liquido-liquido. Molti tensioattivi possono anche assemblarsi in soluzione e in aggregati. Esempi di tali aggregati sono le vescicole e le micelle. La concentrazione alla quale i tensioattivi iniziano a formare micelle è nota come concentrazione critica delle micelle o CMC. Quando le micelle si formano in acqua, le loro code formano un nucleo che può incapsulare una goccia d’olio, e le loro teste (ioniche/polari) formano un guscio esterno che mantiene un contatto favorevole con l’acqua.

Produzione di biosurfattanti

Quasi tutti i tensioattivi sintetici attualmente in uso sono chimicamente derivati petrolchimici. Questi composti sono solitamente tossici per l’ambiente, e possono rilasciare sostanze chimiche tossiche quando si decompongono, sono tossici per la pelle umana e anche i loro sottoprodotti possono essere pericolosi per l’ambiente; a causa della loro natura persistente (non biodegradabile) possono influenzare negativamente la fertilità del suolo e anche contaminare i corpi idrici. Nonostante questi svantaggi, il loro uso aumenta di giorno in giorno a livello globale sia nelle industrie che nelle famiglie.

I biosurfattanti sono composti tensioattivi prodotti da cellule viventi. La loro natura e le loro capacità di ridurre la tensione superficiale dipendono dal tipo e dal ceppo di microrganismo (batteri, lieviti, funghi) utilizzato e dal substrato nutriente disponibile per la crescita cellulare.

I tensioattivi microbici, o biosurfattanti, sono metaboliti tensioattivi prodotti dai microrganismi che crescono su substrati miscibili con l’acqua oppure oleosi: essi rimangono aderenti alle superfici delle cellule microbiche o vengono secreti nel brodo di coltura. Essi costituiscono un gruppo diversificato di molecole tensioattive note per una varietà di strutture chimiche, come glicolipidi, lipopeptidi e lipoproteine, acidi grassi, lipidi neutri, fosfolipidi e strutture polimeriche e particellari. Le caratteristiche che li rendono promettenti alternative ai tensioattivi sintetizzati chimicamente sono la loro minore tossicità, la maggiore biodegradabilità e, quindi, la maggiore compatibilità ambientale, le migliori proprietà schiumogene (utili nella lavorazione dei minerali) e l’attività stabile agli estremi di pH, salinità e temperatura. Le attività dei biosurfattanti possono essere determinate misurando i cambiamenti nelle tensioni superficiali e interfacciali, la stabilizzazione o destabilizzazione delle emulsioni e l’equilibrio idrofilo-lipofilo (HLB). La tensione superficiale di interfacce aria/acqua e olio/acqua può essere facilmente misurata con un tensiometro.

I biosurfattanti hanno proprietà uniche che i tensioattivi sintetizzati chimicamente non hanno, come l’alta attività di superficie, la compatibilità ambientale, la minore tossicità e la biodegradabilità, la buona attività antimicrobica e il fatto di non perdere le proprietà fisico-chimiche a diverse temperature, pH e in

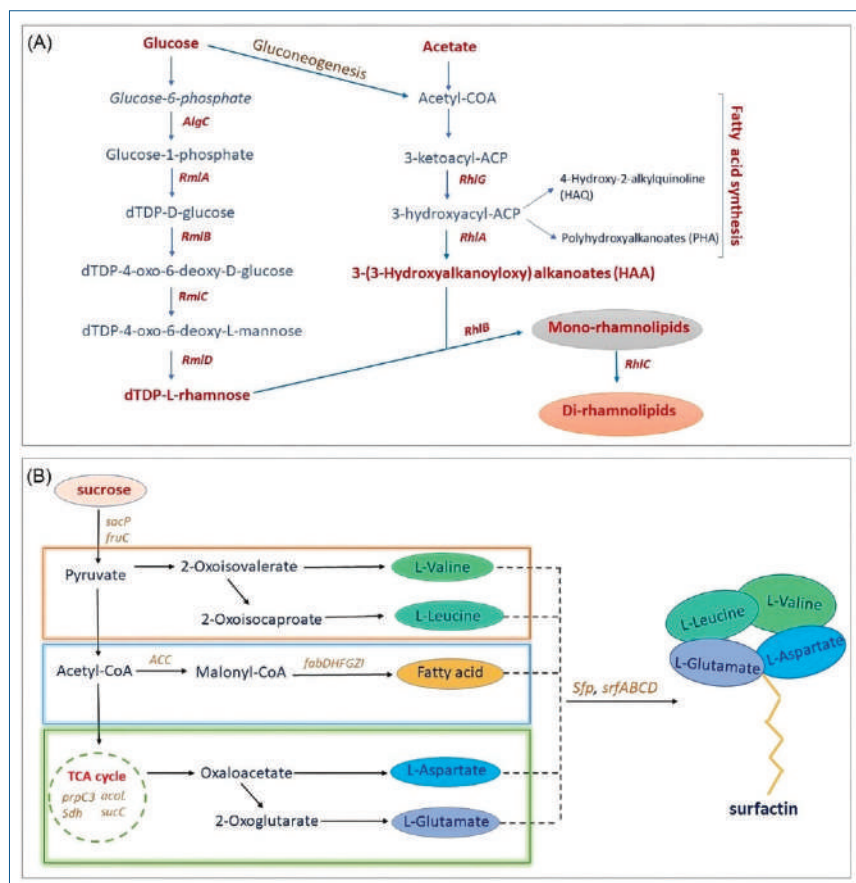


Fig. 1 - Sintesi dei biosurfattanti (da [5])

presenza di elettroliti. Sono ampiamente utilizzati nel recupero microbico del petrolio (MEOR), nell'agricoltura, nell'industria del cibo, nei cosmetici e nelle industrie farmaceutiche. Oggi il petrolio greggio e i prodotti petroliferi sono la principale fonte di idrocarburi inquinanti per il suolo e gli ambienti marini. A causa della natura insolubile di questi inquinanti in acqua, la loro rimozione dall'ambiente è molto complessa. La biodegradazione degli idrocarburi da parte di microrganismi è uno dei modi promettenti per rimuoverli dal suolo e dall'ambiente marino.

Produzione di biosurfattanti con sistemi a celle di flusso continue a ultrasuoni

Gli ultrasuoni sono suoni non udibili all'orecchio umano e sono suddivisi in ultrasuoni di potenza 20-100 kHz, ultrasuoni ad alta frequenza (20 kHz - 2 MHz) e, come per l'ecografia diagnostica, frequenza superiore a 1 MHz. In pratica, gli ultrasuoni sono utilizzati in due gamme: bassa intensità (alta frequenza 100 kHz - 1 MHz, bassa potenza inferiore a

1 W/cm²) e alta intensità (bassa frequenza 2-100 kHz, alta potenza di 10-1000 W/cm²). A seconda dell'intensità, il loro utilizzo può avere diversi impatti biologici, da benefici a distruttivi. Gli effetti primari sono dovuti al fenomeno della cavitazione, che provoca cambiamenti chimici e fisici. È stato dimostrato che gli ultrasuoni aumentano la permeabilità cellulare che promuove o rilascia metaboliti cellulari ed esosomi vescicolari. Gli ultrasuoni possono essere impiegati in diverse fasi, tramite sonde o sistemi ad ultrasuoni a celle di flusso continuo. Gli ultrasuoni a bassa intensità promuovono il trasferimento di massa attraverso lo strato limite, la membrana cellulare e persino il citosol, riducendo lo spessore dello strato limite. Inoltre, il trasferimento di massa indotto dagli ultrasuoni può alterare i siti attivi di enzimi e quindi modificare l'attività enzimatica. Al contrario, gli ultrasuoni ad alta intensità possono

causare la rottura della membrana cellulare e possono danneggiare macromolecole vitali o addirittura indurre lisi. L'utilizzo di ultrasuoni a bassa intensità può stimolare e controllare l'attività dei microrganismi insieme ad altri processi, come la fermentazione, per aumentare l'efficienza e la produttività. L'idea alla base della cavitazione idrodinamica è che quando passa un liquido attraverso una costrizione o una piccola apertura, come un orifizio, la pressione del liquido aumenta e la pressione locale attorno alla vena scende al di sotto della pressione di soglia, creando una cavità.

Applicazioni dei biosurfattanti

Le applicazioni dei biosurfattanti, tuttavia, sono ancora in fase di sviluppo a livello industriale. Lo sviluppo dell'applicazione dei biosurfattanti nelle industrie si concentra principalmente sull'alta resa di produzione dei biosurfattanti e sulla formulazione di biosurfattanti altamente attivi con proprietà specifiche. Considerando le ampie applicazioni potenziali dei

biosurfattanti, è importante migliorarne la produzione a livello commerciale e testare un'ampia varietà di diversi microrganismi che possano produrre biosurfattanti con diverse strutture chimiche e proprietà di superficie. I biosurfattanti migliorano l'emulsificazione degli idrocarburi, solubilizzano i contaminanti idrocarburi e, di conseguenza, permettono la crescita microbica su una fonte di carbonio immiscibile in acqua.

I surfattanti o tensioattivi sono molecole in grado di abbassare la tensione superficiale di un liquido e che possiedono proprietà schiumogene, bagnanti, detergenti e solubilizzanti, grazie alla loro doppia natura idrofila e lipofila. I surfattanti di origine microbica, o biosurfattanti, possono essere classificati in quattro gruppi principali sulla base della specie di microrganismo produttore e sulla base della loro struttura chimica: lipopeptidi e lipoproteine, glicolipidi, fosfolipidi e surfattanti polimerici. Un'ulteriore classificazione distingue i biosurfattanti in base al loro peso molecolare: quelli a basso peso molecolare vengono definiti biosurfattanti mentre i polimeri ad alto peso molecolare prendono il nome di bioemulsionanti.

Da un punto di vista strutturale, la porzione idrofila dei biosurfattanti è costituita solitamente da carboidrati, peptidi ciclici, amminoacidi, fosfati, acidi carbossilici o alcoli, mentre la porzione idrofobica è costituita da lunghe catene di acidi grassi.

I biosurfattanti sono secreti nell'ambiente extracellulare o derivano da porzioni di membrana cellulare di batteri, lieviti e funghi. I surfattanti maggiormente studiati sono i lipopeptidi prodotti da *Bacillus subtilis*, i glicolipidi prodotti da *Pseudomonas aeruginosa* e i soforolipidi isolati da diverse specie di *Candida*. Tra i glicolipidi prodotti da *P. aeruginosa*, i ramnolipidi, rappresentano una classe di composti estremamente promettente in quanto saranno la prossima generazione di biosurfattanti che raggiungeranno il mercato. Infatti, un numero elevato di pubblicazioni scientifiche e brevetti (più di 300 a copertura mondiale) è stato dedicato recentemente a questa classe di molecole. I ramnolipidi vengono spesso descritti come i migliori tensioattivi microbici finora caratterizzati. Hanno un gruppo glicosilico (ramnosio) e una coda costituita da un acido grasso, acido 3-idrossidecanoico. Precisamente, esistono due classi principali di ramnolipidi: mono-ramnolipidi

e di-ramnolipidi formati, rispettivamente, da uno e due gruppi di ramnosio. Inoltre, i ramnolipidi sono eterogenei nella lunghezza e nel grado di ramificazione della frazione idrofobica, che è funzione dei terreni di crescita e delle condizioni ambientali applicate nei processi fermentativi per la loro produzione industriale. La ragione per cui *P. aeruginosa* produce i ramnolipidi è ancora oggetto di studio. È stato dimostrato tramite studi di inattivazione del gene *rhlA* che questa classe di glicolipidi è coinvolta in cinque funzioni principali: assorbimento di substrati idrofobici, proprietà antimicrobiche, virulenza, modalità di crescita del biofilm e motilità.

I ramnolipidi sono caratterizzati da un elevato potenziale applicativo industriale in quanto aumentano la solubilità, la capacità di espansione e le tensioni superficiali più basse e, inoltre, sono caratterizzati da alta biodegradabilità, bassa tossicità, produzione da substrati rinnovabili e attività antifungina. Per questi motivi, il loro utilizzo è in crescente aumento nell'industria cosmetica per prodotti come idratanti, shampoo, nell'industria dei detergenti, nel biorisanamento di siti inquinati da metalli pesanti e organici e persino nella realizzazione di dispositivi nanotecnologici. Risultano efficaci anche nella rimozione di idrocarburi policiclici aromatici (IPA), pentaclorofenolo e naftaline dal suolo con un'efficienza di rimozione del 60-80% e, nel complesso, questi glicolipidi trovano applicazioni migliorative rispetto ai tensioattivi tradizionali. I biosurfattanti hanno importanti proprietà chimico-fisiche potenzialmente preziose per il mantenimento della salute della pelle. Ad esempio, le loro estremità di acidi grassi sono efficaci per idratare la pelle ruvida e superfici cutanee secche. Inoltre, *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) (precedentemente noto come *Propionibacterium acnes*), impiegato per l'idrolisi dei trigliceridi nella catena degli acidi grassi dei biotensioattivi microbici, potrebbe aiutare a mantenere il pH acido della pelle, favorendo così l'adesione della flora cutanea residente e scoraggiando l'adesione e la crescita di microbi patogeni della pelle per mantenere un microbioma cutaneo sano. Inoltre, gli acidi grassi potrebbero agire come antiossidanti per prevenire la generazione di radicali liberi indotti dai raggi UV. A differenza dei tensioattivi chimici, i componenti dei biotensioattivi (zuccheri, lipidi e proteine)

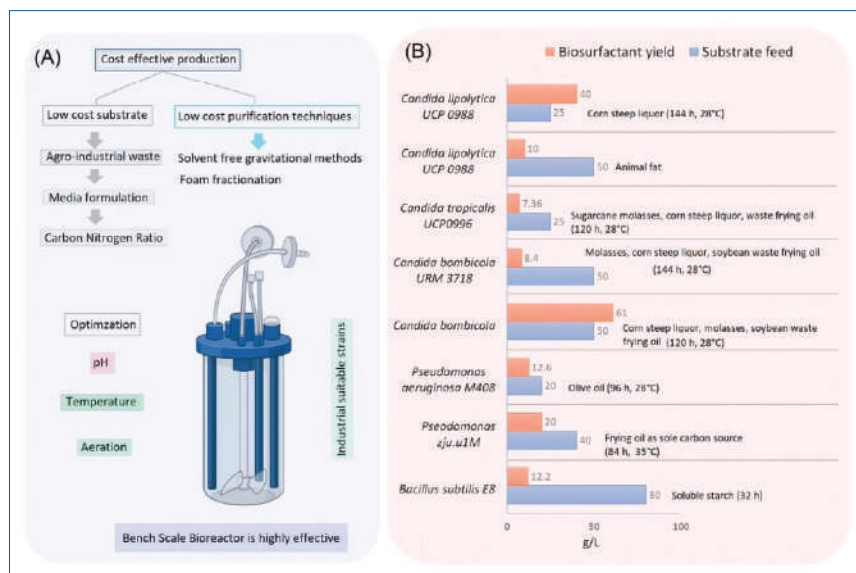


Fig. 2 - Produzione su larga scala dei biosurfattanti e ottimizzazione dei processi fermentativi (da [5])

sono simili a quelli presenti nella membrana delle cellule della pelle (fosfolipidi e proteine). Poiché il movimento dei composti attraverso la membrana delle cellule della pelle dipende dalla loro lipofilità e dall'attività superficiale, la struttura unica dei biosurfattanti offre loro un elevato tasso di permeabilità attraverso la membrana delle cellule della pelle per regolare le funzioni delle proteine e della barriera cutanea e innescare effetti benefici relativi ai meccanismi di riparazione dei capelli e di protezione della pelle. Inoltre, diversi studi *in vitro* hanno dimostrato che ramnolipidi, soforolipidi, MEL e surfattina sono compatibili con la pelle umana. In aggiunta, le proprietà emulsionanti, schiumogene, bagnanti e le funzioni solubilizzanti, che dipendono dalla loro struttura chimica, li rendono interessanti da utilizzare come ingredienti in prodotti cosmetici e per uso veterinario.

Il passaggio dall'utilizzo di prodotti petrolchimici all'utilizzo di fonti rinnovabili come materie prime di partenza per la sintesi dei tensioattivi è stato promosso dal concetto di "going green" spinto da preoccupazioni ambientali, nonché legislazioni governative che hanno proposto restrizioni sui detersivi tossici nei prodotti di consumo. Possono essere utilizzate diverse materie prime che vengono modificate chimicamente per produrre tensioattivi *green*. In particolare, trigliceridi, carboidrati e alcuni acidi organici sono stati estremamente utili come

materiali di partenza nella sintesi dei biosurfattanti. Esempi di tensioattivi prodotti attraverso la sintesi chimica sono saponine, solfati di alcoli grassi, acidi grassi, esteri di zucchero, alchilpoliglucosidi e alcanolammine. I biosurfattanti di seconda generazione si riferiscono a quelli che fanno uso degli organismi della comunità biotica (microbi, lieviti, piante ecc.) attraverso processi biologici, biocatalisi o fermentazione, per produrre i tensioattivi, da cui si estrae il prodotto desiderato e purificato. I biosurfattanti sono tensioattivi microbici come i glicolipidi, in particolare ramnolipidi e soforolipidi e lipopeptidi, specificamente la surfattina, prodotta in questo modo. Le fonti,

le proprietà e gli usi di alcuni ben noti a base oleo-chimica, insieme alle loro caratteristiche strutturali, possono servire sia per la classificazione sia per la determinazione delle loro proprietà fisico-chimiche. Come qualsiasi tensioattivo, contengono una porzione idrofoba (satura, insatura, idrossilata o ramificata) e una porzione idrofila (estere, carbossilato, gruppo ossidrilico, fosfato, peptide, amminoacido o carboidrato). Come in precedenza menzionato, tali prodotti sono considerati estremamente importanti nello scenario attuale, grazie alla loro solidità ecologica e bassa (o nulla) tossicità ed elevata biodegradabilità.

La struttura anfipila nei biosurfattanti è costituita da un acido grasso a catena lunga e da un composto idrofilo, che comprende un amminoacido, acido carbossilico e fosfati. La sintesi delle loro componenti con proprietà idrofobe e idrofile viene effettuata da due vie metaboliche primarie, vale a dire idrocarburi e carboidrati. I percorsi per la sintesi di questi due tipi di precursori è diversificata e basata su insiemi distinti di enzimi. I primi enzimi coinvolti nella sintesi di questi precursori sono spesso regolatori enzimatici. Per Syltatk e Wagner, esistono quattro possibilità per cui possono esistere contemporaneamente sintesi di legami idrofili (HPL) e porzioni idrofobiche (HB) dei biosurfattanti.

I biosurfattanti possono essere prodotti da varietà di microrganismi come batteri, funghi e lieviti. Le

loro caratteristiche composizione chimica e qualità dipendono dai microrganismi che li producono. Questi organismi hanno la capacità di utilizzare substrati potenzialmente nocivi poiché sono stati isolati da terreno, o da acque reflue. I possibili substrati possono essere ampiamente descritti, come rifiuti agroindustriali, industriali, rifiuti di origine vegetale e/o animale e altri rifiuti industriali. I rifiuti agroindustriali si riferiscono agli scarti di lavorazione degli oli vegetali, scarti di macinazione (OMWE) e materiali di scarto amidacei, come quelli della lavorazione di patate, scarti industriali di impianti caseari, come siero di latte ma anche melassa e melassa di soia. Poiché tale processo dipende da microrganismi, culture variabili in base a condizioni e parametri tra cui l'agitazione, il pH, la concentrazione degli elettroliti, temperatura, velocità di diluizione, aerazione e tipi di fonti di carbonio e azoto influenzano il tipo, la qualità e la quantità della produzione di biosurfattanti. Modificando queste condizioni, lo stesso microrganismo può produrre un biosurfattante diverso cambiando anche il substrato di cultura utilizzato. Gli enzimi possono essere isolati, immobilizzati e utilizzati per la produzione di biosurfattanti di base nonché impiegati per la raffinazione o il post-trattamento per produrre altri tipi di biosurfattanti con proprietà modificate. Usando gli enzimi, spesso è possibile trovare una via alternativa per la sintesi di tensioattivi invece di utilizzare la fermentazione. L'esempio più noto è l'utilizzo di lipasi per produrre esteri di zucchero. L'esterificazione senza solventi di un APG (alchilpoliglucoside semplice) avviene utilizzando acidi grassi e lipasi da *Candida antarctica* (CAL).

Saponine

Le saponine vengono classificate in base al numero di zuccheri in tre categorie: monodesmosidiche, bidesmosidiche e saponine tridesmosidiche. Le saponine monodesmosidiche hanno un'unità di zucchero attaccata al carbonio-3; le saponine bidesmosidiche hanno due unità di zucchero attaccate a C-3 e C-26 o C-28, mentre le saponine tridesmosidiche sono costituite da tre unità di zucchero. Le catene degli zuccheri possono essere ramificate o lineari e, tipicamente, contengono acido glucuronico (GlcA), D-fruttosio (Fuc), D-xilosio (Xyl), L-ramnosio (Rha), L-arabinosio (Ara), D-galattosio (Gal) e D-glucosio (Glc). Le saponine sono una classe

diversa di metaboliti secondari presenti in oltre un centinaio di famiglie di piante vascolari e alcune in fonti algali marine.

Le saponine triterpeniche derivano principalmente da quelle di piante dicotiledoni come le Fabaceae, le Araliaceae e le Caryophyllaceae famiglie. Le saponine steroidee si trovano principalmente nelle piante monocotiledoni come le Liliaceae, le Dioscoreaceae e famiglie di Agavaceae. Le saponine sono presenti in varie parti delle piante, compresi steli, radici, foglie, frutti, pericarpo, fiori e semi; la loro composizione e concentrazione variano significativamente tra le diverse piante e anche all'interno della stessa pianta nelle diverse parti. L'ambiente di crescita della pianta e il processo di estrazione influenzano anche la quantità e la composizione delle saponine estratte.

BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

- [1] A.A. Simms, P.J. Naughton *et al.*, *Pharmaceutics*, 2020, **12**, 1099, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111099>
- [2] A. Karnwal, S. Shrivastava *et al.*, in *Personal and Skin Care Products: A Critical Review*, Hindawi BioMed Research International, vol. 2023, article ID 2375223, <https://doi.org/10.1155/2023/2375223>
- [3] V.S. Nagtode, C. Cardoza *et al.*, *ACS Omega*, 2023, **8**, 11674, <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00591>
- [4] Y.P. Timilsena, A. Phosanam, R. Stockmann, *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, **24**, 13538. <https://doi.org/10.3390/ijms241713538>
- [5] R. Kumari, L.P. Singha, P. Shukla, *FEMS Microbes*, 2023, **4**, 1.

Biosurfactants

Surfactants are a group of amphiphilic molecules, having both hydrophobic and hydrophilic domains. They can be derived from petroleum-based sources or microbial/plant origins. Biosurfactants are surfactants of microbial or plant origins and offer much added advantages such as high biodegradability, lesser toxicity, ease of raw material availability, and easy applicability.



ANTICORPI E VACCINI: DUE FACCE DELLA STESSA MEDAGLIA

Anticorpi e vaccini sono cruciali per combattere malattie infettive e resistenza antimicrobica. Gli anticorpi monoclonali (mAb) supportano i vaccini e offrono alternative agli antibiotici. La reverse vaccinology utilizza dati genomici per sviluppare nuovi vaccini. Nonostante i costi elevati, i progressi tecnologici mirano a migliorare accesso ed efficacia, trasformando il trattamento delle infezioni.

Risposta immunitaria umorale

La risposta immunitaria umorale coinvolge le plasmacellule derivate dai linfociti B che producono anticorpi, i quali si legano agli agenti patogeni e ne innescano l'eliminazione attraverso cellule accessorie e molecole immunitarie umorali. La produzione di anticorpi richiede solitamente cellule T helper (T_H) specifiche per un frammento di antigene riconosciuto dalla cellula B. La cellula B prolifera e si differenzia al confine tra la zona T e le cellule B e successivamente nel centro germinale, dove l'ipermutazione somatica diversifica i recettori delle cellule B. Le cellule B con la più alta affinità per l'antigene vengono poi selezionate verso un'ulteriore differenziazione, mantenendo il contatto con l'antigene e presentando peptidi derivati dall'antigene alle cellule T_H del centro germinale. Questo processo aumenta l'affinità anticorpale nel tempo, soprattutto in caso di esposizione ripetuta allo stesso antigene.

Gli anticorpi contribuiscono all'immunità in tre modi principali: neutralizzano virus e batteri bloccandone l'ingresso nelle cellule, impediscono alle tossine batteriche di entrare nelle cellule e contribuiscono all'eliminazione dei patogeni facilitandone l'assorbimento da parte dei fagociti. Gli anticorpi opsonizzano gli agenti patogeni legandosi ai recettori Fc sui fagociti o attivano il sistema del complemento, che migliora ulteriormente l'opsonizzazione e il reclutamento dei fagociti. Inoltre, il

sistema del complemento può lisare direttamente i microrganismi [1]. Gli specifici meccanismi effettori impegnati dipendono dall'isotipo anticorpale prodotto.

Sviluppo di anticorpi monoclonali

Gli anticorpi monoclonali (mAb) sono diventati fondamentali per la medicina personalizzata, evolvendosi in un'industria multimiliardaria da quando è stata concessa la prima licenza quasi quarant'anni fa. Inizialmente prodotti con la tecnologia degli ibridomi, i primi mAb, come Orthoclone OKT3, hanno dovuto affrontare sfide quali gli effetti collaterali e lo sviluppo di anticorpi anti-farmaco [2]. I progressi nelle sequenze chimeriche e umanizzate hanno migliorato i risultati clinici, portando a quasi 200 mAb approvati entro la metà del 2024. Il Rituximab, lanciato nel 1997, ha segnato una svolta nella produzione di mAb su larga scala. La pandemia COVID-19 ha ulteriormente accelerato lo sviluppo dei mAb, con una produzione rapida e su larga scala che ha permesso di trattare milioni di persone e di creare un modello per le future pandemie [3].

Gli anticorpi monoclonali come strumento per combattere la resistenza antimicrobica

Il corpo umano è costantemente esposto a microrganismi, alcuni dei quali possono causare danni fatali. Il sistema immunitario ha il comples-

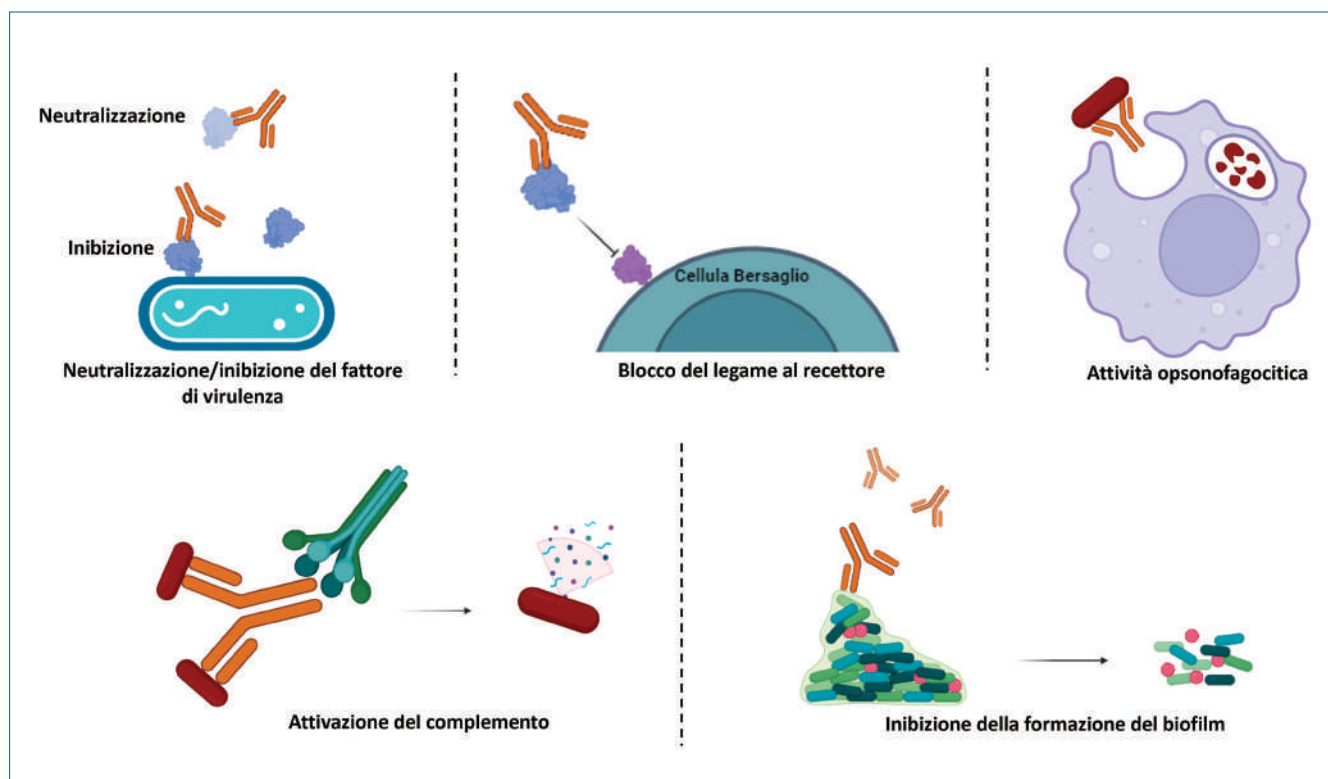


Fig. 1 - Meccanismi d'azione di mAb che impediscono la diffusione di infezioni batteriche

so compito di difenderci da un'ampia gamma di agenti patogeni, ognuno dei quali presenta notevoli differenze a livello molecolare, rendendo impossibile una risposta univoca. L'immunità alle malattie si ottiene grazie alla presenza di anticorpi monoclonali ed è classificata in immunità attiva e passiva. L'immunità attiva prevede l'esposizione dell'organismo a un antigene, che attiva il sistema immunitario a produrre anticorpi specifici per quella malattia. Questa può essere acquisita naturalmente, attraverso un'infezione, o attraverso la vaccinazione, in cui viene introdotta una forma uccisa o indebolita dell'agente patogeno. In entrambi i casi, se l'individuo incontra nuovamente l'agente patogeno, il sistema immunitario lo riconosce rapidamente e produce gli anticorpi necessari. L'immunità attiva è in genere di lunga durata, a volte anche per tutta la vita.

L'immunità passiva, invece, si verifica quando una persona riceve gli anticorpi anziché produrli. Ad esempio, i neonati acquisiscono l'immunità passiva dalle madri, un processo che nella maggior parte dei mammiferi avviene nell'utero o dopo la nascita attraverso l'ingestione di colostro ricco di

anticorpi. L'immunità passiva può essere fornita anche attraverso prodotti ematici contenenti anticorpi, che offrono una protezione immediata in caso di necessità. Tuttavia, a differenza dell'immunità attiva, l'immunità passiva ha vita breve e dura solo poche settimane o mesi [4].

Indipendentemente dal tipo di immunità, i vaccini e i mAb sono fondamentali nella lotta contro la resistenza antimicrobica (AMR). Dalla scoperta della penicillina da parte di Alexander Fleming nel 1928, l'uso eccessivo e scorretto di antibiotici nell'uomo e negli animali ha portato all'aumento di patogeni resistenti ai farmaci, creando l'attuale crisi dell'AMR. L'AMR si verifica quando i microrganismi, come batteri, virus, funghi e parassiti, mutano nel tempo e non rispondono più ai farmaci antimicrobici. La comunità scientifica è ora concentrata sullo sviluppo di nuove terapie alternative agli antibiotici tradizionali.

Gli anticorpi monoclonali, con i loro diversi meccanismi d'azione e la loro comprovata efficacia nel trattamento di malattie come il cancro e i disturbi autoimmuni, stanno emergendo come una promettente alternativa agli antibiotici tradiziona-

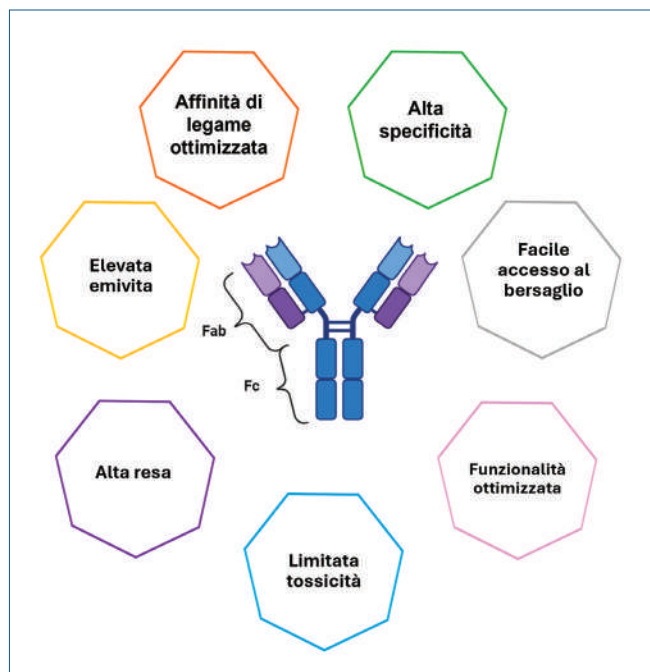


Fig. 2 - Caratteristiche necessarie allo sviluppo di un mAb

li. I mAb possono interrompere la crescita batterica inibendo la formazione di biofilm, bloccando l'acquisizione del ferro, impedendo l'attaccamento e l'adesione, neutralizzando le tossine, promuovendo l'opsonofagocitosi e attivando le vie del complemento (Fig. 1). Inoltre, i mAb possono essere somministrati come terapie autonome o in combinazione con gli antibiotici, offrendo una protezione prolungata grazie alla loro maggiore emivita. La loro elevata specificit  minimizza anche i danni al microbioma intestinale, riducendo gli effetti avversi associati agli antibiotici [5].

Nel contesto dei vaccini, i mAb sono pi  che semplici alternative: possono potenziare l'efficacia dei vaccini esistenti mirando a specifici siti di vulnerabilit  dei patogeni. Mentre i vaccini richiedono tempo per fornire una protezione completa, i mAb offrono una difesa immediata, rendendoli particolarmente utili nelle situazioni di epidemia in cui   necessaria un'azione rapida. I vaccini si basano su una forte risposta immunitaria, che pu  essere insufficiente in alcune popolazioni, come gli immunocompromessi o i pazienti che assumono farmaci immunosoppressivi. I mAb, invece, possono attaccare direttamente gli agenti patogeni senza bisogno di un robusto sistema immunitario dell'ospite, il che li rende preziosi come

trattamento per infezioni allo stadio iniziale, mentre i vaccini servono principalmente come misure preventive.

In definitiva, vaccini e mAb offrono due approcci complementari per combattere la resistenza antimicrobica. Le sinergie emergenti tra i due includono l'isolamento di potenti mAb umani da individui vaccinati o da pazienti naturalmente esposti agli agenti patogeni, che possono aiutare a chiarire i meccanismi del vaccino, identificare nuovi antigeni e determinare le funzioni protettive degli anticorpi. Insieme, queste tecnologie forniscono una strategia potente e versatile per combattere la resistenza antimicrobica e migliorare la salute globale.

Struttura e funzione dei mAb

Gli anticorpi monoclonali hanno una struttura a "Y" composta da quattro catene polipeptidiche: due catene pesanti e due catene leggere, con un peso molecolare totale di circa 150 kDa. Le regioni Fab (frammento legante l'antigene), situate sui bracci, si legano ad antigeni specifici, mentre la regione Fc (frammento cristallizzabile) sul gambo determina la classe dell'anticorpo e media le funzioni effettrici. I mAb sono classificati in cinque classi (IgM, IgD, IgG, IgE, IgA), ma le IgG rappresentano la classe principalmente utilizzata a livello terapeutico grazie alla loro stabilit , bassa immunogenicit  e farmacocinetica favorevole. Lo sviluppo di un mAb terapeutico comporta fasi complesse, tra cui l'ottimizzazione dell'affinit  di legame (misurata dalla K_D), la garanzia di un'elevata specificit  per limitare gli effetti collaterali e l'ingegnerizzazione per una funzionalit  ottimale, come la modulazione della citotossicit  e la creazione di coniugati anticorpo-farmaco (ADC). Il successo dei trattamenti con mAb richiede un accesso sufficiente al bersaglio, che pu  essere ostacolato dall'aggregazione o dalla scarsa penetrazione nei tessuti. Pertanto, gli anticorpi possono essere mutagenizzati per prevenire l'aggregazione.   fondamentale garantire una tossicit  minima, ottenuta progettando anticorpi umanizzati o chimerici con una minore immunogenicit . La produttivit  e l'elevata emivita nel siero sono essenziali per ridurre i costi di sviluppo e aumentare l'efficacia del trattamento (Fig. 2). Una bassa

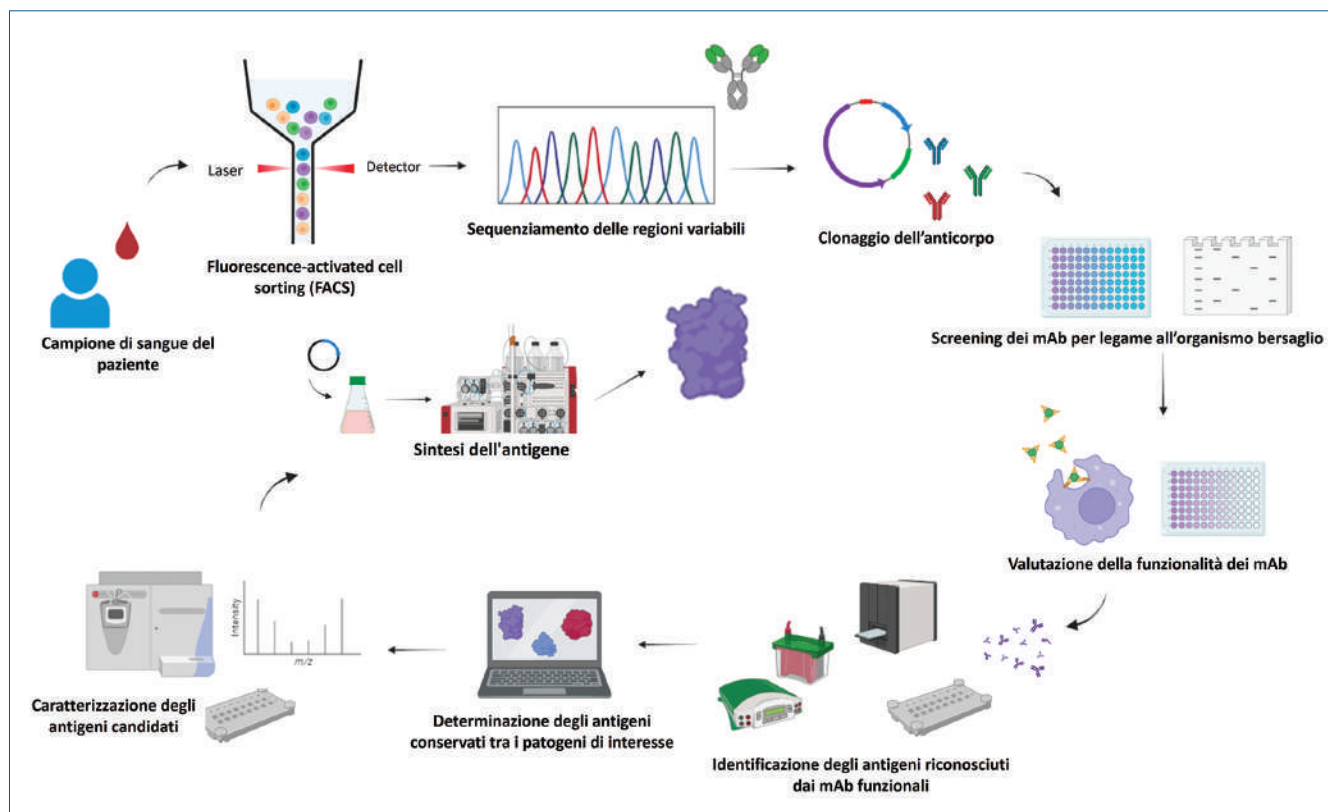


Fig. 3 - Rappresentazione illustrativa del processo di *reverse vaccinology* 2.0

produttività può far lievitare i costi a livelli proibitivi, mentre un'elevata emivita del siero riduce la frequenza delle iniezioni, abbassando ulteriormente i costi. I continui progressi nell'ingegneria degli anticorpi e l'integrazione dei dati genomici e medici saranno fondamentali per migliorare l'efficacia e l'accessibilità dei mAb [6].

Reverse vaccinology

Il sequenziamento del primo genoma batterico nel 1995 (*Haemophilus influenzae*) ha dato inizio a una nuova era nello sviluppo dei vaccini. I dati genomici e le analisi bioinformatiche hanno permesso di identificare potenziali antigeni localizzati sulla superficie degli agenti patogeni. Questi antigeni sono stati poi espressi in modo ricombinante e testati immunizzando animali misurando i livelli di protezione per convalidare o scartare i potenziali candidati al vaccino. Questo approccio "classico" di *reverse vaccinology* ha portato con successo alla creazione del vaccino multicomponente contro il meningococco del sierogruppo

B (4CMenB). Un vantaggio significativo della *reverse vaccinology* è che può essere applicata a qualsiasi agente patogeno con dati di *Whole-Genome-Sequencing* disponibili e la sua efficacia è stata dimostrata con agenti patogeni come *Acinetobacter baumannii*, multiresistente ai farmaci. Tuttavia, le analisi bioinformatiche tradizionali possono perdere proteine cruciali non-classiche associate alla superficie.

La maggior parte dei vaccini batterici si basa su anticorpi specifici per il patogeno per fornire protezione, il che sottolinea il valore di sfruttare la risposta anticorpale per identificare nuovi antigeni protettivi. La *reverse vaccinology* 2.0 porta avanti questo approccio isolando ed esprimendo le regioni variabili delle immunoglobuline. Gli anticorpi monoclonali ricombinanti vengono successivamente prodotti e valutati attraverso modelli animali di immunità passiva e saggi funzionali *in vitro* per determinarne la rilevanza clinica. Gli antigeni specifici legati da questi mAb funzionali vengono identificati utilizzando *array* di proteine o



metodi immunoproteomici (Fig. 3). In definitiva, la scoperta e la sintesi di antigeni bersaglio di mAb umani protettivi facilita e irrobustisce la progettazione di vaccini [7].

Conclusioni

Il successo degli anticorpi monoclonali nelle recenti terapie suggerisce un loro più ampio utilizzo futuro. Sebbene i progressi della vaccinologia siano promettenti, molte malattie sono ancora prive di trattamenti efficaci e la crescente resistenza antimicrobica richiede alternative agli antibiotici. I vaccini e i mAb offrono una soluzione complementare, anche se il loro costo elevato rappresenta una notevole sfida. I progressi tecnologici dovrebbero rendere i trattamenti con mAb più accessibili e la sempre migliore caratterizzazione di anticorpi specifici per patogeni aiuterà a sviluppare terapie e vaccini migliori, potenzialmente rivoluzionando il trattamento delle infezioni batteriche.

BIBLIOGRAFIA

- [1] I. Sebina, M. Pepper, *Curr. Opin. Immunol.*, 2018, **51**, 46.
- [2] G. Köhler, C. Milstein, *Nature*, 1975, **256**, 495.
- [3] B. Kelley, *mAbs*, 2024, **16**, 2373330.
- [4] D. Baxter, *Occup. Med.*, 2007, **57**, 552.
- [5] C. La Guidara, R. Adamo *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, **25**, 5487.
- [6] B. Wang, S. Gallolu Kankanamalage *et al.*, *Antib. Ther.*, 2021, **4**, 45.
- [7] R. Rappuoli, M.J. Bottomley *et al.*, *Exp. Med.*, 2016, **213**, 469.

Of Antibodies and Vaccines: Two Sides of the Same Coin

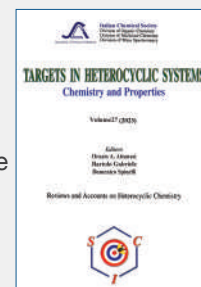
Antibodies and vaccines are crucial in fighting infectious diseases and antimicrobial resistance. Monoclonal antibodies (mAbs) complement vaccines and can serve as antibiotic alternatives. Reverse vaccinology uses genomic data to identify antigens, enabling next-generation vaccines. Despite high costs, advances in technology aim to improve access and effectiveness, transforming infection treatment.

LIBRI E RIVISTE SCI

Targets in Heterocyclic Systems Vol. 27

È disponibile il 27° volume della serie "Targets in Heterocyclic Systems", a cura di Orazio A. Attanasi, Bortolo Gabriele e Domenico Spinelli

https://www.soc.chim.it/libri_collane/ths/vol_27_2023



Sono disponibili anche i volumi 1-26 della serie.

I seguenti volumi sono a disposizione dei Soci gratuitamente, è richiesto soltanto un contributo spese di € 10:

- G. Scorrano "La Storia della SCI", Edises, Napoli, 2009 (pp. 195)
- G. Scorrano "Chimica un racconto dai manifesti", Canova Edizioni, Treviso, 2009 (pp. 180)
- AA.VV. CnS "La Storia della Chimica" numero speciale, Edizioni SCI, Roma 2007 (pp. 151)
- AA.VV. "Innovazione chimica per l'applicazione del REACH" Edizioni SCI, Milano, 2009 (pp. 64)

Oltre "La Chimica e l'Industria", organo ufficiale della Società Chimica Italiana, e "CnS - La Chimica nella Scuola", organo ufficiale della Divisione di Didattica della SCI (www.soc.chim.it/riviste/cns/catalogo), rilevante è la pubblicazione, congiuntamente ad altre Società Chimiche Europee, di riviste scientifiche di alto livello internazionale:

- ChemPubSoc Europe Journal
- Chemistry A European Journal
- EURJOC
- EURJIC
- ChemBioChem
- ChemMedChem
- ChemSusChem
- Chemistry Open

- ChemPubSoc Europe Sister Journals
- Chemistry An Asian Journal
- Asian Journal of Organic Chemistry
- Angewandte Chemie
- Analytical & Bioanalytical Chemistry
- PCCP, Physical Chemistry Chemical Physics

Per informazioni e ordini telefonare in sede, 06 8549691/8553968, o inviare un messaggio a segreteria@soc.chim.it



LE CHETOREDUTTASI: BIOCATALIZZATORI EFFICIENTI PER LA SINTESI DI ALCOLI CHIRALI

La biocatalisi rappresenta oggi un approccio sostenibile di notevole interesse industriale per la produzione di intermedi farmaceutici. In questo articolo, analizzando la letteratura scientifica degli ultimi anni, viene descritto l'impiego delle chetoreduttasi nella riduzione enantioselettiva di chetoni prochirali, con un focus particolare sull'uso di questi enzimi in forma immobilizzata.

Introduzione

La chiralità riveste un ruolo fondamentale nell'ambito della produzione di molecole biologicamente attive per applicazioni farmaceutiche. La purezza enantiomerica dei farmaci è, infatti, un fattore critico che può influire sull'efficacia e sulla sicurezza di una terapia. È noto che le molecole chirali possono esistere in forme enantiomeriche che possono interagire in modo diverso con i recettori biologici e questo può avere conseguenze significative sulla loro attività biologica [1]. In alcuni casi, ad esempio, uno dei due enantiomeri di un farmaco può possedere l'attività terapeutica desiderata, mentre l'altro può causare effetti collaterali indesiderati o addirittura essere inattivo. Oggi, più del 50% dei farmaci in commercio è costituito da molecole chirali [2]. Pertanto, la capacità di ottenere enantiomeri puri è diventata di fondamentale importanza per l'industria farmaceutica. Metodi di sintesi selettivi che consentono la produzione di singoli enantiomeri sono diventati essenziali per garantire la sicurezza e l'efficacia dei farmaci. Per soddisfare la crescente richiesta di farmaci enantiomericamente puri, sono stati sviluppati processi sia chemocatalitici che biocatalitici che permettono l'ottenimento di importanti intermedi chirali [1].

Gli alcoli enantiopuri, in quanto sintoni chirali, rivestono un'importanza significativa nel contesto della

sintesi di un grande numero di composti biologicamente attivi tra cui composti naturali, prodotti agrochimici e intermedi farmaceutici. Queste molecole possono essere impiegate come precursori di molecole chirali in quanto possono essere facilmente convertite nei corrispondenti epossidi o in altri intermedi utili per la sintesi di composti della chimica fine. Le chetoreduttasi (KRED), conosciute anche come alcoldeidrogenasi (ADH), si sono dimostrate biocatalizzatori molto efficienti nella riduzione enantioselettiva di chetoni per l'ottenimento di alcoli chirali [3]. Ad oggi, molte chetoreduttasi sono disponibili sul mercato e la loro efficacia è stata dimostrata anche su scala industriale.

Questi enzimi, appartenenti alla classe degli enzimi redox, catalizzano la riduzione di composti carbonilici grazie al trasferimento di un idruro da un cofattore nicotinammidico, come NADH o NADPH, al substrato. Il processo inizia con l'instaurarsi di interazioni elettrostatiche e idrofobiche tra il sito attivo dell'enzima e il substrato. Il gruppo chinolinico del cofattore si lega all'enzima e successivamente un idruro si aggiunge al gruppo carbonilico del chetone con formazione dell'alcol corrispondente. Il prodotto di reazione ed il cofattore vengono quindi rilasciati nell'ambiente di reazione [4]. Nella reazione il cofattore subisce un processo di ossidazione come illustrato nella Fig. 1. A seconda dell'orientamento

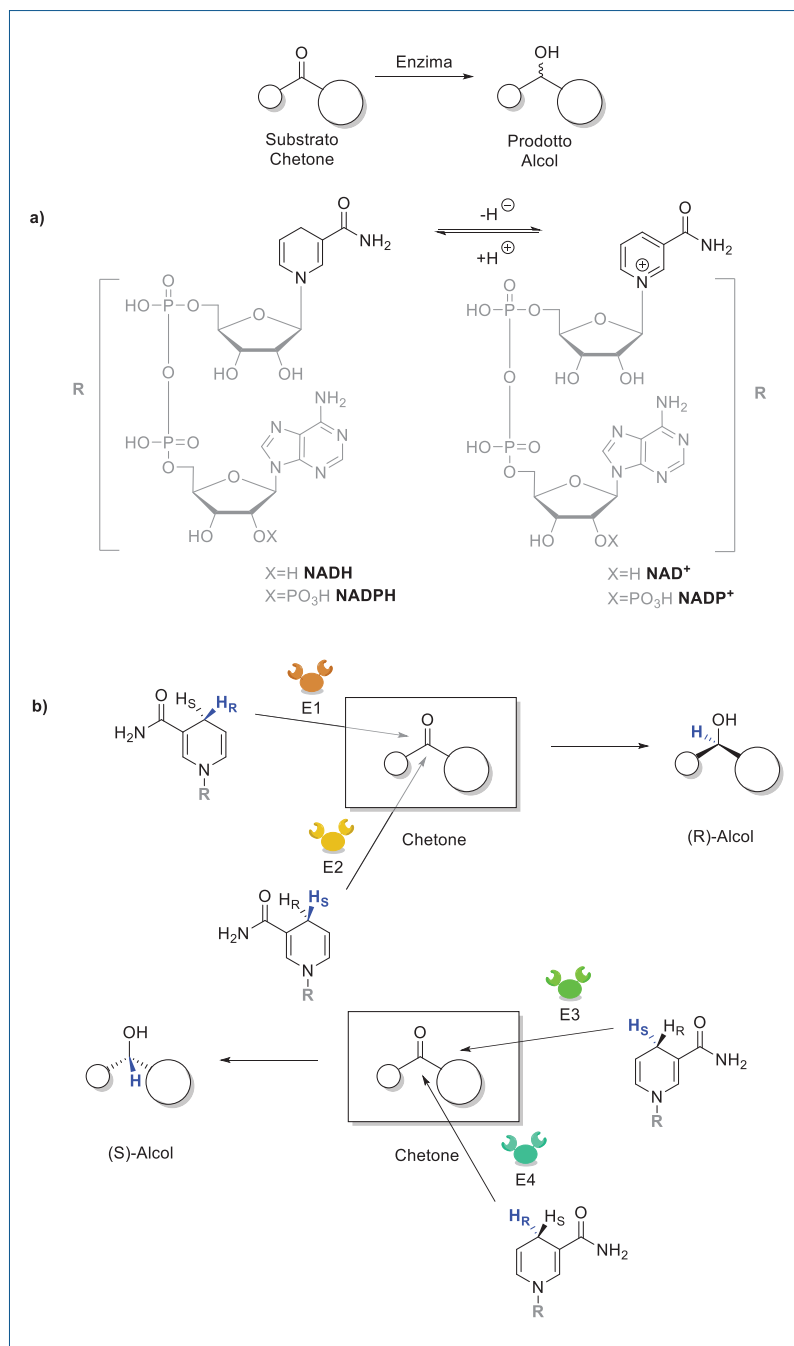


Fig. 1 - Riduzione enantioselettiva di chetoni catalizzata da chetoreduttasi: a) struttura e chimica redox del cofattore NAD(P)H; b) possibile decorso stereochimico del trasferimento di idruo dal cofattore NAD(P)H al chetone

relativo del substrato e dell'enzima, l'idruo può attaccare il gruppo carbonilico sia sulla faccia si che sulla faccia re, generando alcoli con configurazione (R) e (S) rispettivamente [5].

I cofattori nicotinamidici NADH o NADPH sono molecole costose e pertanto non possono essere

usate in quantità stechiometrica per scopi applicativi. Sono stati quindi messi a punto metodi efficienti per la loro rigenerazione *in situ* che ne consentono l'impiego in quantità catalitica. Le strategie che possono essere utilizzate sono due, come evidenziato nella Fig. 2.

La prima strategia coinvolge l'utilizzo di un co-substrato che può essere ossidato dallo stesso enzima impiegato nella reazione di riduzione d'interesse. L'ossidazione del co-substrato è accompagnata dalla riduzione del cofattore che viene quindi rigenerato nella sua forma originaria e reso disponibile per un nuovo ciclo catalitico (Fig. 2a). Se il co-substrato viene utilizzato in eccesso, può favorire lo spostamento dell'equilibrio della reazione nella direzione desiderata. Questo metodo è noto come "approccio del substrato accoppiato" ed è ampiamente adottato nelle riduzioni biocatalitiche [6]. Uno dei co-substrati più comunemente utilizzati è il 2-propanolo (*i*PrOH) che genera come co-prodotto l'acetone, facilmente rimosibile dalla miscela di reazione grazie alla sua volatilità. Un ulteriore vantaggio derivante dall'utilizzo di questo composto è la sua capacità di agire anche da co-solvente, favorendo così la reazione in presenza di substrati poco solubili in ambiente acquoso.

La seconda strategia, conosciuta come "approccio dell'enzima accoppiato", prevede l'impiego di un secondo enzima che permette la rigenerazione del cofattore attraverso l'ossidazione di un substrato specifico per questo enzima (Fig. 2b). La glucosio deidrogenasi (GDH) e la formiato deidrogenasi (FDH) sono due degli enzimi più comunemente utilizzati per tale scopo grazie alla loro capacità di convertire rispettivamente il glucosio in acido gluconico e il formiato in CO₂ in modo irreversibile [3]. Il processo di ossidazione del substrato specifico per l'enzima selezionato è accompagnato dalla riduzione del cofattore che viene quindi rigenerato e reso disponibile per un nuovo ciclo catalitico.

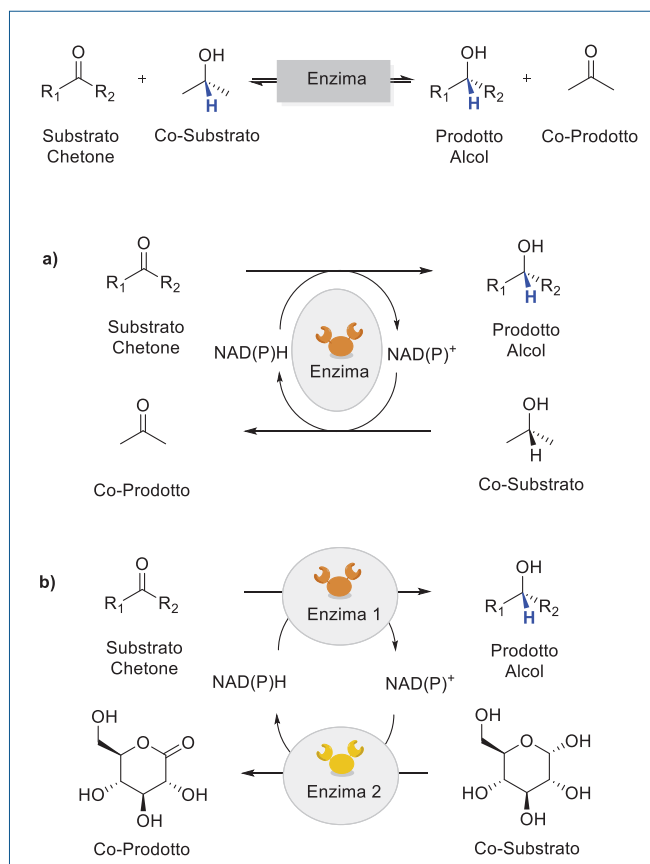


Fig. 2 - Possibili strategie di rigenerazione del cofattore: a) approccio del substrato accoppiato; b) approccio dell'enzima accoppiato

Negli ultimi anni sono apparse in letteratura molte applicazioni della riduzione enantioselettiva catalizzate da chetoreduttasi su diverse classi di composti carbonilici (ad esempio chetoni ciclici, eterociclici, alifatici, aromatici, clorochetoni ecc.) [3]. In particolare, i nuovi metodi di ingegnerizzazione proteica, la bioinformatica e le moderne tecnologie di biologia molecolare hanno consentito lo sviluppo delle biotrasformazioni mediante riduzione catalizzata da chetoreduttasi come strumento importante per la produzione industriale di alcoli chirali [3]. Alcune delle importanti molecole ottenute mediante riduzione biocatalizzata su scala industriale sono riportate in Fig. 3.

Immobilizzazione degli enzimi chetoreduttasi

Nell'ambito della letteratura scientifica riguardante le chetoreduttasi, l'immobilizzazione ha suscitato un ampio interesse. Lo scopo fondamentale di questa tecnica è quello di migliorare la stabilità e l'efficienza catalitica del biocatalizzatore in condizioni non naturali ma spesso riscontrate in processi industriali (es. elevate concentrazioni di substrato, presenza di solvente organico, temperature elevate). Gli enzimi immobilizzati offrono inoltre il vantaggio di poter essere facilmente separati dalle miscele di reazione e riutilizzati per cicli successivi di reazione.

Esistono numerose tecniche di immobilizzazione, che possono essere suddivise principalmente in

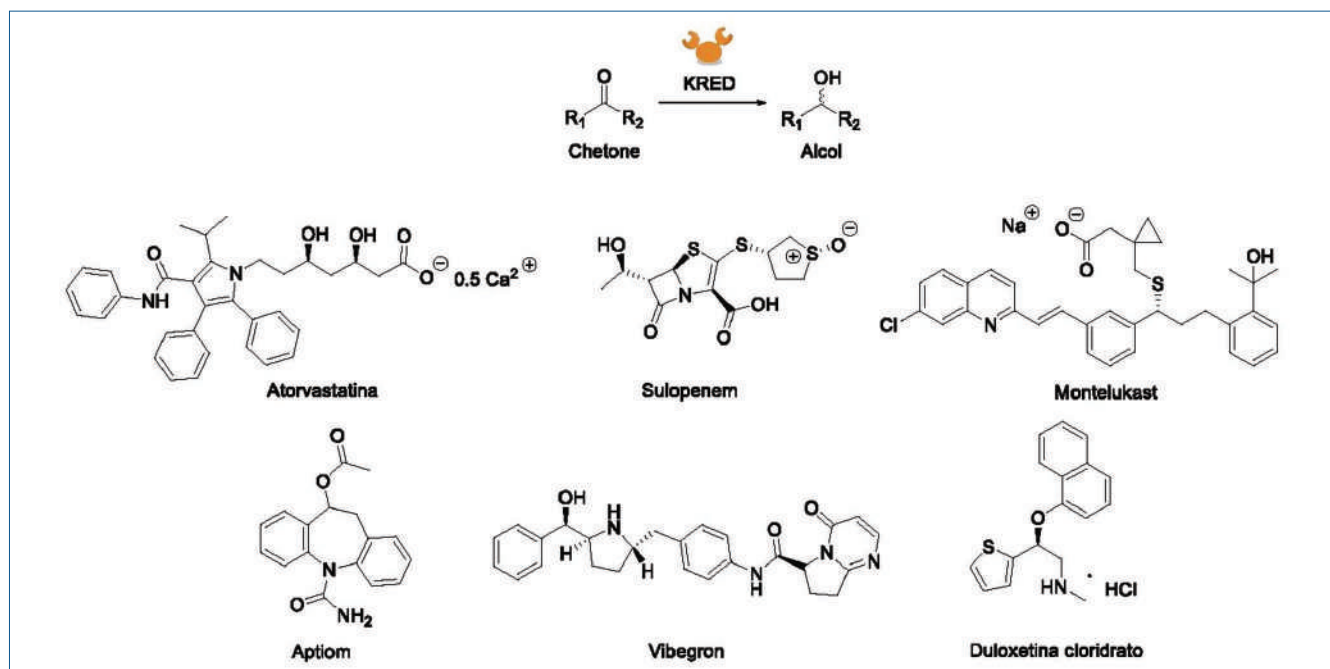


Fig. 3 - Composti farmaceutici sintetizzati a partire da chetoni prochirali mediante chetoreduttasi

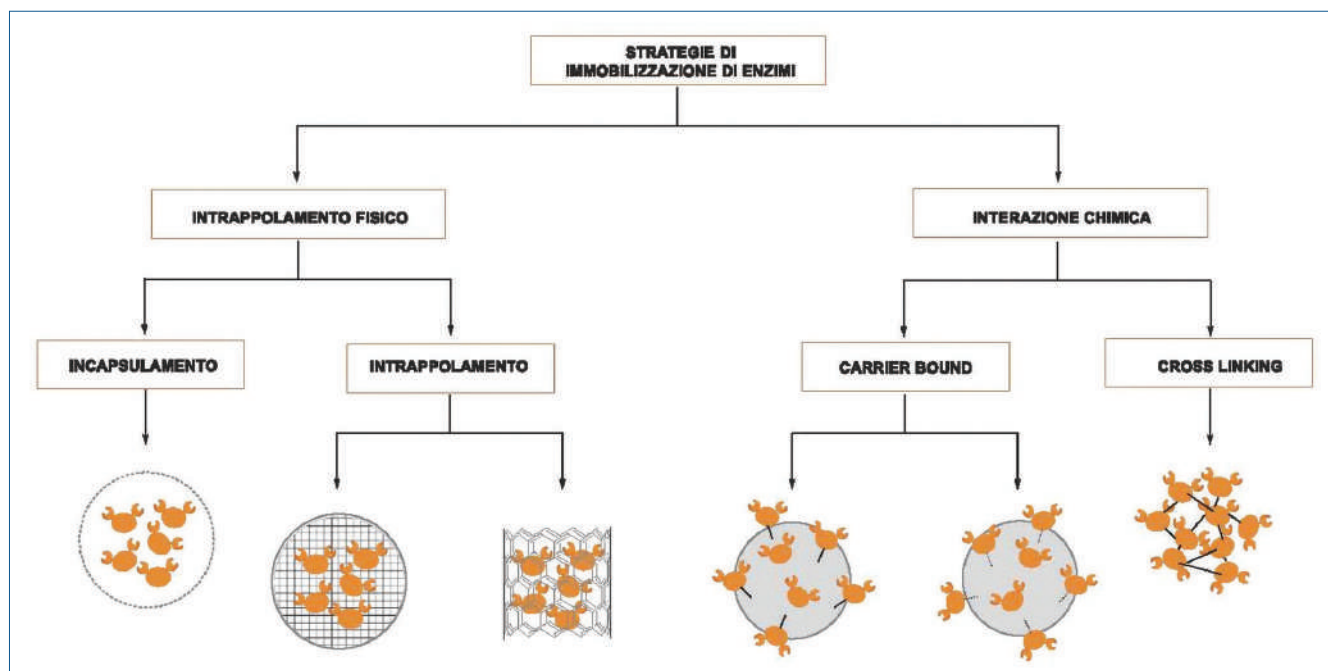


Fig. 4 - Metodi di immobilizzazione di enzimi

metodi basati sull'intrappolamento fisico e metodi basati su interazioni chimiche (Fig. 4) [7]. Per l'immobilizzazione di enzimi isolati i metodi che prevedono interazioni chimiche sono generalmente preferiti [8]. In particolare, il legame covalente dell'enzima con un supporto solido insolubile nell'ambiente di reazione permette la preparazione di biocatalizzatori eterogenei stabili per la reazione di interesse. Questo approccio rende più semplice il recupero dell'enzima ed il suo eventuale riutilizzo in cicli successivi. L'efficienza di tale processo dipende dal tipo di supporto utilizzato e dalle interazioni stabilite fra l'enzima e il supporto. Per assicurare un'elevata attività enzimatica del biocatalizzatore immobilizzato, è fondamentale evitare, nella formazione dei legami con il supporto, il coinvolgimento dei residui di amminoacidi necessari alla catalisi. Ad oggi sono disponibili una vasta gamma di supporti per questo metodo di immobilizzazione e la scelta del supporto più appropriato dipende dalle specifiche proprietà del catalizzatore e dall'applicazione prevista [8].

Le chetoreduktasi sono state ancorate mediante legami covalenti su una vasta gamma di supporti, tra cui agarosio, nanoparticelle magnetiche, nanoparticelle di silice rivestite di polianilina e resine polimeriche organiche [3].

La reticolazione diretta degli enzimi, sia attraverso la formazione di cristalli enzimatici reticolati (*Cross*

Linked Enzyme Crystals, CLECs) che di aggregati enzimatici reticolati (*Cross Linked Enzyme Aggregates*, CLEAs) consente di sviluppare biocatalizzatori eterogenei senza la necessità di utilizzare un supporto prefabbricato, rendendo così il processo di immobilizzazione più economico [7]. Questo approccio implica la formazione di legami covalenti fra le molecole di enzima mediante l'utilizzo di un agente reticolante, spesso costituito da una dialdeide che può reagire con i gruppi $-NH_2$ presenti sull'enzima. Le strutture ottenute risultano insolubili per l'aumento del peso molecolare; esse, inoltre, essendo prive di supporto, presentano un'attività enzimatica molto concentrata. L'impiego di un agente reticolante può essere esteso anche a campioni di enzimi immobilizzati su supporti per bloccarli nella conformazione reattiva e prevenirne il rilascio.

Ad oggi, sono stati riportati vari esempi di immobilizzazione delle KRED mediante formazione di CLEAs [3]. In alternativa, gli enzimi possono essere confinati all'interno di matrici sia polimeriche che inorganiche, sviluppate per permettere il passaggio del substrato e del prodotto attraverso la loro struttura tridimensionale. In questo metodo di immobilizzazione il supporto non è prefabbricato ma è preparato in presenza dell'enzima, permettendo così il suo intrappolamento all'interno della matrice tridimensionale appositamente creata [8].

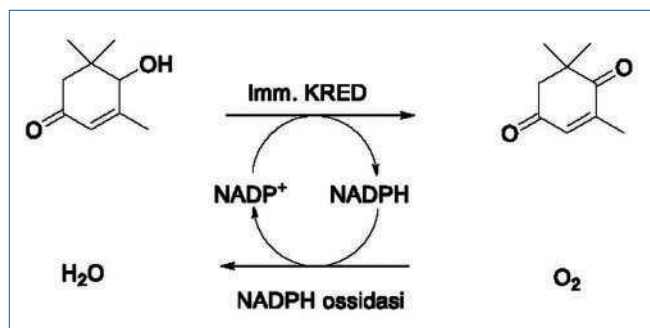


Fig. 5 - Sintesi del 4-oxoisoforone catalizzata da chetoreduttasi immobilizzata su supporti funzionalizzati

Uso di chetoreduttasi immobilizzate per la sintesi di intermedi di APIs

Alcuni contributi della letteratura scientifica degli ultimi anni che documentano l'utilizzo di KRED immobilizzate per la sintesi di intermedi di APIs (*Active Pharmaceutical Ingredients*) sono di seguito illustrati. Recentemente è stato riportato lo studio dell'immobilizzazione di una chetoreduttasi su 17 diversi supporti derivatizzati con vari gruppi funzionali [9]. I migliori risultati in termini di resa di immobilizzazione e recupero di attività sono stati ottenuti con un supporto a base di agarosio funzionalizzato con gruppi epossidici. La KRED immobilizzata su questo supporto è stata impiegata per la preparazione del 4-oxoisoforone, un intermedio chiave per la sintesi di carotenoidi e della vitamina E (Fig. 5).

Il biocatalizzatore è stato efficacemente riutilizzato in 4 cicli di reazione consecutivi (96 ore di funzionamento totali), fornendo una resa elevata di prodotto per grammo di enzima, con un aumento del rendimento di 2,5 volte rispetto a quanto ottenuto con enzimi solubili.

Un intermedio chiave per la produzione del farmaco Atazanavir è stato ottenuto mediante l'impiego di una KRED immobilizzata tramite la formazione di

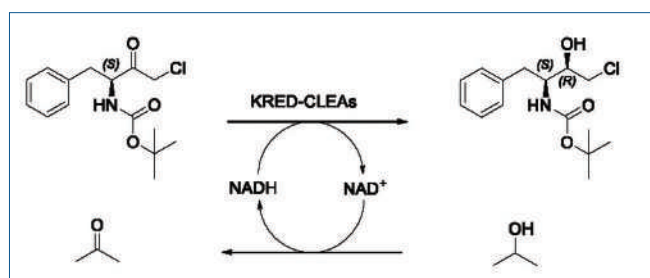


Fig. 6 - Sintesi del (2R,3S)-N-tert-butossicarbonil-3-ammino-1-cloro-2-idrossi-4-fenilbutano catalizzata da chetoreduttasi immobilizzata mediante formazione di CLEAs

CLEAs, utilizzando glutaraldeide come agente reticolante in presenza del tensioattivo non ionico (Fig. 6) [10]. Il biocatalizzatore ottenuto ha dimostrato una resistenza maggiore ai solventi organici, al pH e alla temperatura rispetto all'enzima libero. Nel corso dello studio, è stata ottenuta la completa conversione del substrato in sole otto ore di reazione, operando in un sistema bifasico 50:50 (v/v) tampone (pH=10,0):toluene, a una temperatura di 30 °C. Inoltre, l'enzima immobilizzato è stato riutilizzato in modalità *batch*, mantenendo una conversione del substrato pari a 85,3% dopo 7 cicli di reazione. La resa spazio-temporale del prodotto è risultata 226 g L⁻¹gg⁻¹.

Più recentemente è stata sviluppata la sintesi enantioselettiva del (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol, un importante intermedio per la sintesi di APIs, mediante l'impegno di una KRED commerciale immobilizzata (Fig. 7) [11]. Nello studio, la KRED selezionata è stata immobilizzata mediante legame covalente su cinque resine organiche commerciali derivatizzate con gruppi funzionali di varia natura. I risultati migliori sono stati ottenuti con un supporto funzionalizzato con gruppi amminici. I parametri di reazione, temperatura e solvente, sono stati ottimizzati per la reazione di interesse. La conversione completa del substrato e un elevato eccesso enantiomerico (>99,9%) sono stati ottenuti in un sistema solvente composto da 90:10 (v/v) iPrOH:H₂O alla temperatura di 30 °C: queste condizioni hanno permesso, inoltre, un facile recupero del prodotto mediante semplice evaporazione del solvente. Il biocatalizzatore sviluppato è stato, infine, utilizzato in un sistema in flusso per valutare la riciclabilità del biocatalizzatore. Sono stati quindi effettuati cinque cicli di reazione consecutivi nei quali il prodotto è stato recuperato dopo 24 ore di reazione con con-

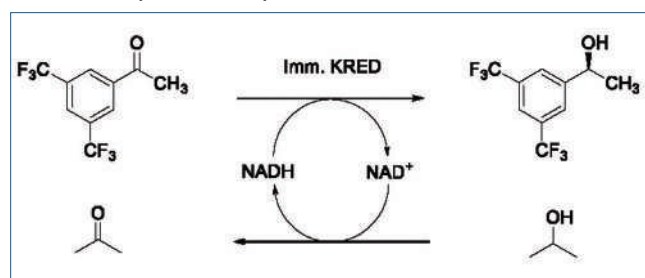


Fig. 7 - Sintesi di (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol catalizzata da chetoreduttasi immobilizzata mediante formazione di legami covalenti su resine funzionalizzate

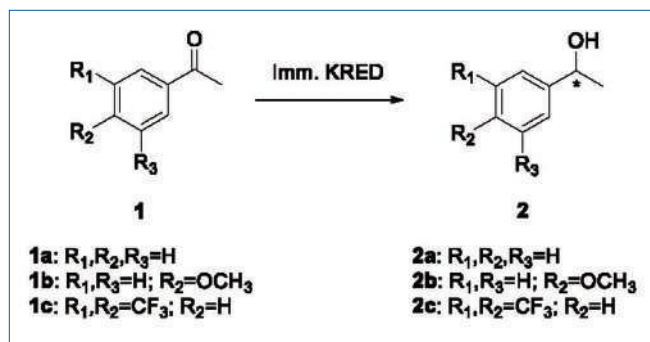


Fig. 8 - Riduzione enantioselettiva di chetoni prochirali aromatici catalizzata da chetoreduktasi immobilizzate su supporti a base di gel di silice

versione completa ed eccesso enantiomerico superiore al 99,9%, senza osservare quindi diminuzioni di attività o enantioselettività.

Con lo scopo di sviluppare un metodo di immobilizzazione efficiente per le KRED, uno studio comparso recentemente riporta l'impiego di supporti a base di gel silice in alternativa alle resine polimeriche funzionalizzate [12]. Questi supporti inorganici, oltre ad essere caratterizzati da un'elevata stabilità meccanica e termica, hanno un costo competitivo rispetto ad altri supporti commerciali e quindi risultano particolarmente adatti per processi di produzione su larga scala. L'immobilizzazione avviene attraverso un processo di adsorbimento fisico dell'enzima al supporto con formazione di interazioni deboli fra i gruppi -OH della silice e l'enzima. Tre enzimi KRED commerciali sono stati immobilizzati ed utilizzati nella bioriduzione di chetoni prochirali aromatici (Fig. 8). Gli alcoli chirali corrispondenti, ottenuti con buone rese ed eccellente enantioselettività, sono importanti *building blocks* per la chimica fine. Il riciclo del biocatalizzatore più performante è stato studiato in un sistema in flusso: nessuna perdita di attività e di enantioselettività è stata osservata dopo cinque reazioni consecutive.

Conclusioni

Gli enzimi chetoreduktasi possono essere considerati ad oggi biocatalizzatori molto efficienti nella sintesi enantioselettiva di alcoli chirali. Le tecniche di ingegnerizzazione e di immobilizzazione hanno permesso di ottenere enzimi più stabili nelle condizioni di conservazione e di reazione e con elevate capacità enantioselettive. Il rapido sviluppo delle chetoreduktasi ed i numerosi esempi riportati in let-

teratura dimostrano che l'utilizzo di questi enzimi può rappresentare un approccio sostenibile per la produzione su scala industriale di importanti intermedi farmaceutici.

BIBLIOGRAFIA

- [1] G. Lin, J. Zhang, O. Shanghai, *Chiral Drugs: Chemistry and Biological Action*, Wiley, Hoboken (New Jersey), 2011, 1-27.
- [2] J. Ceramella, D. Iacopetta *et al.*, *Applied Sciences*, 2022, **12**, 10909.
- [3] A. de Miranda, C. Milagre, F. Hollmann, *Frontiers in Catalysis*, 2022, **2**, 900554.
- [4] J. An, Y. Nie, Y. Xu, *Critical Review in Biotechnology*, 2019, **39**, 366.
- [5] M. Damian, F. Mutti, *European Journal of Organic Chemistry*, 2023, **26**, 1.
- [6] S. De Wildeman, T. Sonke *et al.*, *Accounts of Chemical Research*, 2007, **40**, 1260.
- [7] R. Sheldon, A. Basso, D. Brady, *Chemical Society Reviews*, 2021, **50**, 5850.
- [8] L. Cao, *Carrier-bound immobilized enzymes: principles, application and design*, John Wiley & Sons, Hoboken (New Jersey), 2006.
- [9] J. Solé, J. Brummund, G. Caminal, M. Schürman, G. Álvaro, M. Guillén, *ChemCatChem*, 2019, **11**, 4862.
- [10] K. Wu, X. Hu, Z. Yang, J. Huang, X. Wang, L. Shao, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2021, **96**, 714.
- [11] D. Armani, O. Piccolo, A. Petri, *ChemCatChem*, 2023, **15**, e202300809.
- [12] D. Armani, O. Piccolo, A. Petri, *Catalysts*, 2024, **14**, 148.

Ketoreductases: Efficient Biocatalysts for the Synthesis of Chiral Alcohols

Biocatalysis is currently a sustainable approach of considerable industrial interest for the production of pharmaceutical intermediates.

In this article, analyzing the scientific literature of recent years, the use of ketoreductases in the enantioselective reduction of prochiral ketones is described, with a particular focus on the use of these enzymes in immobilized form.



INTELLIGENZA ARTIFICIALE E MEDICINA DI PRECISIONE A SALVAGUARDIA DEL BENESSERE UMANO

L'intelligenza artificiale (IA) nella medicina di precisione (MP) consente l'individuazione di trattamenti personalizzati per singoli pazienti considerando la loro genetica e il loro stile di vita. L'IA, analizzando complessi big data, identifica correlazioni sottili fra i dati, fondamentali per lo sviluppo di terapie personalizzate, ottimizzando le strategie di trattamento e i risultati per i pazienti.

IA: Origine ed evoluzione

Probabilmente, i lettori saranno un po' confusi dalle affermazioni che seguiranno, poiché, quando si parla di IA, si tende a pensare a concetti moderni, come androidi-umanoidi e *tool* informatici in grado di elaborare complessi risultati in pochi secondi. In realtà, se volessimo citare i primi lavori in cui veniva introdotto il concetto di IA, dovremmo impostare la *timeline* agli inizi del XVIII secolo, dove i primi studi di IA furono iniziati da B. Bouchon, J.B. Falcon, J. Vaucanson. Nei decenni successivi, C. Babbage, A.A. King, A.M. Turing forniranno tutte le basi teoriche-pratiche che porteranno alla moderna IA [1].

La prima definizione moderna di IA è attribuita al Prof. John McCarthy (1956), il quale descriveva l'IA come "la scienza e l'ingegneria per realizzare macchine intelligenti". Parafrasando J. McCarthy, potremmo dire che l'IA è il termine usato per rappresentare l'uso di computer e tecnologia per simulare un comportamento intelligente e un pensiero critico paragonabili a quelli di un essere umano [2].

A questo punto, è lecito che il lettore si chieda: "Come fa un algoritmo di IA a simulare un comportamento intelligente paragonabile a quello umano?" Chiariamo il concetto di algoritmo.

L'algoritmo può essere definito come un processo o un insieme di regole da seguire nei calcoli o in

altre operazioni di risoluzione dei problemi tramite un computer. Se il lettore è confuso, basti pensare a una serie di operazioni che quotidianamente facciamo utilizzando il nostro PC o smartphone, come ordinare i file in una cartella in base alla dimensione o sbloccare lo smartphone attraverso le impronte digitali.

Mentre un algoritmo generale può essere semplice, gli algoritmi di IA sono per natura più complessi, poiché sono in grado di acquisire e immagazzinare dati (dati di *training*) al fine di apprendere e migliorare. Il modo in cui tali dati vengono acquisiti, elaborati ed etichettati determina la differenza fondamentale tra i vari tipi di algoritmi di IA.

Per comprendere facilmente il funzionamento dell'IA, l'autore vi invita a paragonarla al primo giorno di scuola di una scolaro, che inizialmente è priva di nozioni. Tuttavia, nel corso della sua carriera scolastica ed accademica, acquisendo nuove conoscenze (dati di *training*) fornite dal/la docente (sviluppatore), sarà in grado di elaborare complesse operazioni (richiesta dell'utente) utilizzando un pensiero critico e fornendo un risultato (algoritmo di IA).

Esistono differenti algoritmi di IA e le differenze principali risiedono nel modo in cui vengono addestrati per apprendere i dati e nel modo di elaborarli.



In questo articolo verranno introdotti solo alcuni fra i più popolari e comunemente utilizzati nel campo della medicina di precisione (MP).

MP: Origine ed evoluzione

L'autore vorrebbe nuovamente sorprendere il lettore, in quanto il concetto di MP fu introdotto per la prima volta oltre mille anni fa da Avicenna (medico persiano). Avicenna, nel primo volume della sua opera più importante, "Il Canone della Medicina", introduceva il concetto di MP, affermando che "ogni farmaco avrà effetti diversi su diversi corpi e organi di una persona", anticipando di mille anni ciò che oggi viene definito "fenotipo" nella medicina moderna e i concetti che tuttora guidano la MP [3].

La MP si basa sul concetto che la scelta del farmaco più appropriato per un paziente dipende dalle sue caratteristiche personali e differenze individuali offrendo molti vantaggi poiché la maggior parte delle malattie è multifattoriale, causata dall'interazione di fattori genetici e ambientali, che variano notevolmente da paziente a paziente.

Tra i pionieri della moderna MP troviamo Sir William Osler (medico canadese), che all'inizio del secolo scorso affermava: "È molto più importante sapere che tipo di paziente ha una malattia piuttosto che il tipo di malattia ha un paziente" [4].

La MP ha vissuto un lungo periodo di latenza, per essere portata poi alla ribalta nel 2015 da Barack Obama, quando, durante il suo discorso sullo stato dell'Unione, ha affermato: "Stasera lancio una nuova iniziativa di MP per avvicinarci alla cura di malattie come il cancro e il diabete", portando a un enorme aumento di interesse verso la MP rispetto alla medicina tradizionale (MT).

Mentre la MT utilizza un approccio generico, in cui un farmaco specifico viene utilizzato per curare tutti i pazienti affetti da una determinata malattia (approccio limitato poiché trascura la variabilità soggettiva e la multifattorialità patologica), la MP mira a risolvere questo problema tenendo conto della variabilità della sottopopolazione in fattori genetici e socio-ambientali, per proporre terapie mirate (Fig. 1).

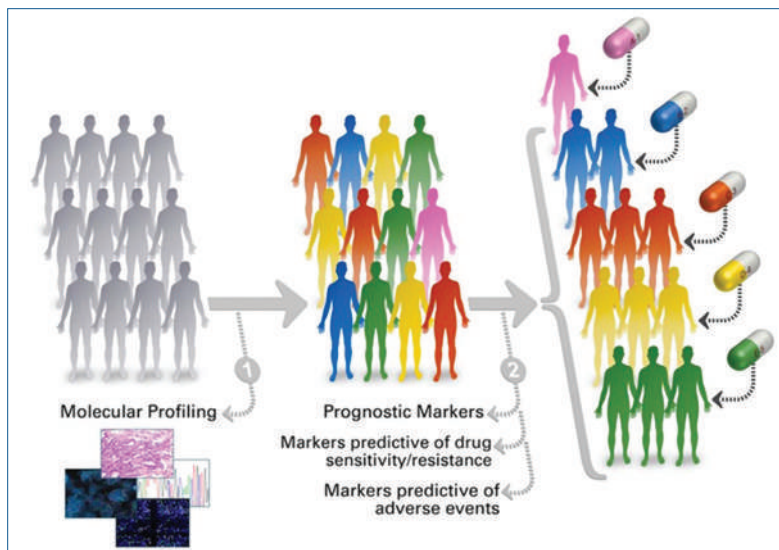


Fig. 1 - Approccio MP (da MD Anderson Cancer Center, <https://www.colorectalcancer.ca/blog/asco-names-molecular-profiling-of-gastrointestinal-cancer-advance-of-the-year/>)

Gli strumenti con cui la MP cerca di raggiungere i suoi obiettivi sono molteplici, tra cui le scienze *-omics* e l'IA.

In questo numero de "La Chimica e l'Industria", verranno trattati casi studio su come l'IA viene applicata nel campo della MP, i vantaggi, i risultati ottenuti e l'impatto sulla salute umana.

Algoritmo di IA Decision Tree

Uno degli algoritmi più comuni è il *Decision Tree* (albero decisionale), che prende il nome dalla sua struttura ad albero. In termini semplici, possiamo rappresentare questo algoritmo come un albero (capovolto), dove le radici dell'albero, man mano che acquisiscono acqua e nutrienti (dati di *training*), consentono alla pianta di crescere (elaborazione delle informazioni) e diramarsi in più rami e ramoscelli (diverse soluzioni del problema elaborato). Infine, ogni ramo e ramoscello termina con delle foglie (possibili soluzioni e conclusioni del problema) (Fig. 2).

Decision Tree e ipertensione: un caso studio di MP

Nello studio condotto da Tayefi *et al.* [5] l'algoritmo *Decision Tree* era utilizzato per individuare possibili correlazioni fra fattori di rischio associati alla condizione patologica dell'ipertensione. In questa

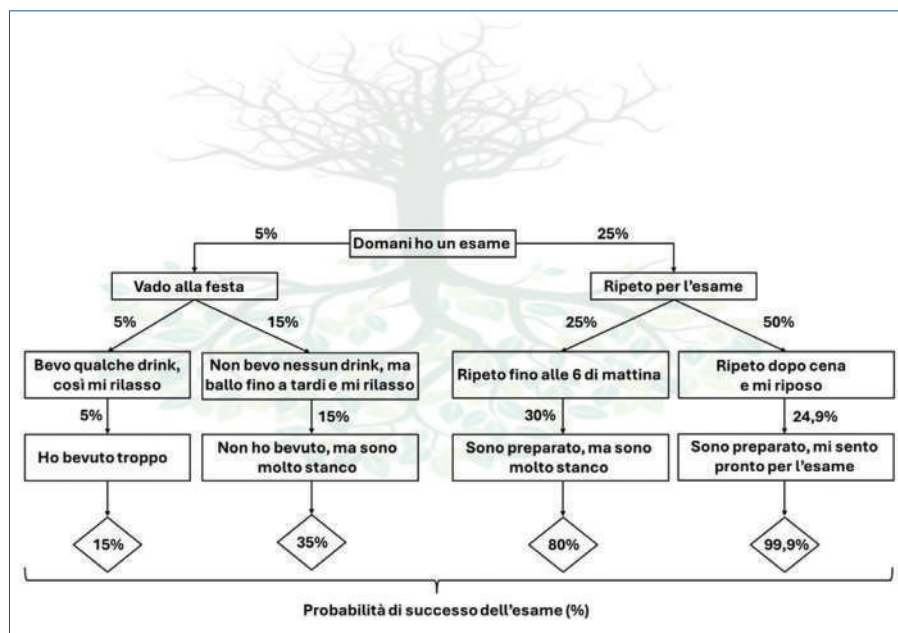


Fig. 2 - Workflow dell'algoritmo "Decision Tree"

ricerca sono stati esaminati 9078 soggetti, il 70% dei quali è stato utilizzato come dataset di *training* per la costruzione dell'algoritmo, mentre il restante 30% è stato utilizzato come dataset di *test* per valutare l'efficacia dell'algoritmo. Sono stati costruiti due modelli. Nel modello I, le variabili di input includevano età, sesso, indice di massa corporea, stato civile, livello di istruzione, stato occupazionale, depressione, ansia, livello di attività fisica, stato di fumatore, colesterolo LDL, trigliceridi nel siero (TG), colesterolo totale (TC), glucosio nel sangue (FBG), proteina C reattiva (PCR) e acido urico. Nel modello II, le variabili di input includevano età, sesso, WBC (globuli bianchi), RBC (globuli rossi), HGB (emoglobina), HCT (ematocrito), MCV (volume corpuscolare medio dei globuli rossi in un volume di sangue), MCH (contenuto medio di emoglobina nei globuli rossi), PLT (numero di piastrine per volume di sangue), RDW (ampiezza della distribuzione eritrocitaria) e PDW (grado di variabilità della dimensione delle piastrine).

L'algoritmo di IA, confrontando tutti i parametri del modello I, ha identificato per la prima volta la PCR come nuovo marcatore e fattore di rischio per l'ipertensione. Nel modello II, invece, ha rilevato l'RDW come un importante marcatore correlato all'età. In particolare, se l'età era superiore a 58 anni in entrambi i sessi, l'RDW classificava i sog-

getti come ipertesi o non ipertesi. Un altro aspetto del secondo modello era che, per i soggetti di età compresa tra 48 e 58 anni, i fattori variavano ampiamente in base al genere. Negli uomini, RBC e PDW erano indicatori di ipertensione. Al contrario, nelle donne di età compresa tra 48 e 58 anni, RDW, WBC, RBC, HCT e PLT erano fattori associati all'ipertensione.

Questo studio dimostra l'importanza dell'IA nella MP per identificare fattori di rischio associati all'ipertensione, utili per sviluppare programmi di gestione dell'ipertensione mirati per specifici sottogruppi della popolazione.

Regressione lineare

La regressione lineare è un algoritmo che stabilisce una relazione lineare tra una variabile indipendente e una variabile dipendente, al fine di prevedere l'esito di eventi futuri, quindi, questo metodo di analisi è particolarmente utile quando sono disponibili almeno due variabili nei dati.

Regressione lineare e prevalenza dell'HIV/AIDS: un caso studio di MP

Nello studio di Madigan *et al.* [6] l'algoritmo di regressione lineare veniva utilizzato per l'individuazione di possibili correlazioni fra condizioni socio-sanitarie e prevalenza di HIV/AIDS. L'algoritmo di IA è stato istruito con variabili come il numero di: 1) infermieri; 2) ostetriche; 3) medici; 4) enti di regolamentazione e associazioni infermieristiche a livello nazionale; 5) anni di scuola per laurea in infermieristica; 6) spesa pubblica per la salute; 7) tasso di alfabetizzazione degli adulti maschi e 8) femmine.

L'algoritmo aveva l'obiettivo di identificare i fattori che maggiormente influivano sulla percentuale del tasso di prevalenza di HIV/AIDS tra gli adulti di età compresa tra 15 e 49 anni.

I risultati della regressione lineare hanno dimostrato che la densità di infermieri e medici e l'alfabetizzazione femminile (ma non maschile) era inversamen-

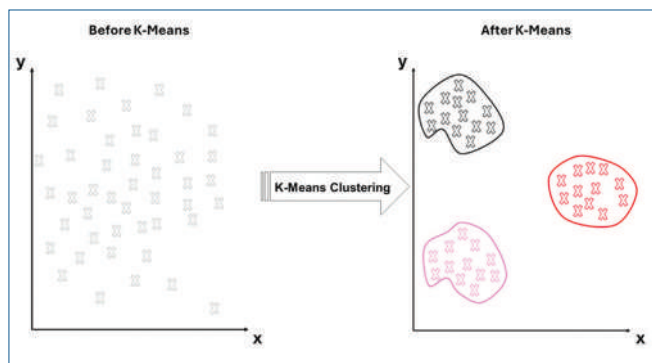


Fig. 3 - Workflow dell'algoritmo "K-Means"

te associata ai tassi di prevalenza dell'HIV/AIDS. Questo esempio dimostra come l'IA possa identificare variabili apparentemente non correlate (come l'alfabetizzazione femminile ma non maschile) e proporre nuovi modelli di MP applicabili su intere popolazioni o nazioni per prevenire patologie e salvaguardare la salute umana.

K-means

Il *K-means clustering* (raggruppamento significativo di dati) è stato sviluppato per dividere un insieme di dati non etichettati in un certo numero di gruppi (K) in modo che i dati all'interno di ciascun gruppo siano più simili tra loro e diversi dai punti dati degli altri gruppi. Essenzialmente, si tratta di raggruppare elementi in base alla loro somiglianza o differenza (Fig. 3).

K-means e diabete: un caso studio di MP

Nello studio di Ahlqvist *et al.* [7] l'algoritmo *K-means* era utilizzato per l'individuazione di potenziali correlazioni fra informazioni cliniche e la condizione patologica del diabete. L'algoritmo di IA è stato addestrato con un dataset di 8.980 pazienti con una recente diagnosi di diabete. Il processo di clustering ha incorporato sei variabili: anticorpi anti-glutammato decarbossilasi, emoglobina glicata, età alla diagnosi, indice di massa corporea, modello omeostatico 2 della funzione delle cellule beta e della resistenza all'insulina. Collegando questi cluster con le cartelle cliniche dei pazienti, l'algoritmo è riuscito a identificare informazioni significative e una forte correlazione tra l'incidenza del problema e le prescrizioni di farmaci. Questa ricerca rappresenta un progresso significativo nella MP per il diabete, integrando dati diagnostici e informazioni del siste-

ma sanitario, contribuendo a una classificazione dei pazienti più accurata e clinicamente rilevante.

Rete neurale

La rete neurale è una classe di algoritmi di IA che imita le funzioni del cervello umano. Questi algoritmi tendono a essere più complessi rispetto a quelli discussi in precedenza e trovano applicazioni che vanno oltre quelle già trattate.

Una rete neurale è un sistema di apprendimento automatico che prende decisioni imitando il cervello umano, utilizzando processi simili a quelli dei neuroni biologici. Ogni rete neurale è composta da strati di nodi, o neuroni artificiali: uno strato di input (dove vengono immagazzinati i dati, etichettati o non etichettati), uno o più strati nascosti (dove i dati vengono elaborati e le decisioni vengono prese) e uno strato di output (dove viene fornito il risultato). Ogni nodo si connette agli altri e ha un peso e una soglia associati, simili alla capacità dell'essere umano di valutare razionalmente diverse opzioni. Se l'output di un nodo supera la soglia specificata, il nodo viene attivato, inviando dati allo strato successivo; altrimenti, il dato non viene trasmesso (Fig. 4).

Rete neurale e malattie rare

(Alcaptonuria -AKU-): un caso studio di MP

Nello studio condotto da A. Visibelli *et al.* [8] un algoritmo di rete neurale era utilizzato per l'identificazione della patologia Alcaptonuria (AKU) dall'analisi di immagini. In questa ricerca, una rete neurale (AKUImg) è stata sviluppata per elaborare immagini standard, (vetrini istopatologici AKU) e discriminare la presenza della malattia confrontando le immagini istopatologiche.

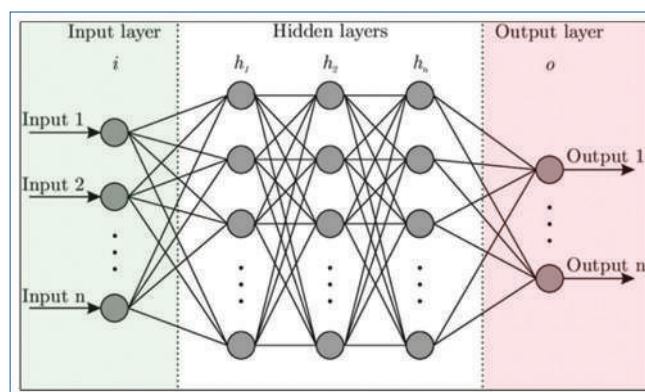


Fig. 4 - Workflow dell'algoritmo "Rete Neurale"

Data la rarità della patologia e la conseguente scarsità di immagini disponibili, il modello di rete neurale è stato istruito e implementato con una classificazione binaria della cartilagine del ginocchio (analisi comparativa degli istogrammi di colore dei tre canali), rivelando che le cartilagini affette da Alkaptonuria e sane sono facilmente distinguibili. Per ogni nuova immagine da classificare, veniva valutata la regione di intersezione tra l'istogramma correlato e tutti gli istogrammi nel dataset. Infine, l'immagine di prova veniva assegnata alla classe con la regione di intersezione più grande.

In conclusione, l'algoritmo può eseguire la classificazione delle immagini con un'elevata accuratezza, rendendolo un potente strumento per ricercatori e clinici, anche nel caso di malattie rare come AKU.

Conclusioni

L'IA svolge un ruolo cruciale nel potenziare la MP, un approccio che mira a personalizzare i trattamenti medici basandosi sulle caratteristiche individuali dei pazienti. Alcuni aspetti fondamentali dell'importanza dell'IA sono:

- analisi dei *big data* in grado di analizzare enormi quantità di dati, inclusi genomica, dati clinici, immagini mediche e dati provenienti da dispositivi indossabili, permettendo di identificare *pattern* complessi e relazioni difficili da rilevare con metodi tradizionali;
- identificazione di biomarcatori per diagnosticare malattie o per predire la risposta ai trattamenti, migliorando la precisione diagnostica e la personalizzazione delle cure;
- ottimizzazione dei piani di trattamento in base alle caratteristiche specifiche del paziente, migliorando l'efficacia del trattamento e riducendo il rischio di complicazioni;
- prevenzione e diagnosi precoce per prevedere il rischio di sviluppare determinate malattie e per rilevare segni di malattia nelle fasi iniziali, quando il trattamento è più efficace.

Le attuali e future applicazioni dell'IA sono e saranno ottimizzate in molti campi, quali:

- terapie genetiche e modifiche del DNA con tecnologie di editing genetico, come CRISPR, per sviluppare terapie altamente personalizzate che correggono direttamente le mutazioni genetiche responsabili di malattie;
- medicina preventiva e salute pubblica per per-

mettere una medicina preventiva su larga scala e personalizzare programmi di prevenzione per gruppi specifici di popolazione;

- medicina rigenerativa e terapie cellulari per accelerare lo sviluppo della medicina rigenerativa, ottimizzando le condizioni per la crescita e il differenziamento delle cellule, migliorando l'efficacia delle terapie cellulari;
- accesso democratizzato alla cura dove i trattamenti personalizzati potrebbero diventare più accessibili anche in aree meno sviluppate, riducendo le disuguaglianze nell'accesso alle cure.

L'integrazione dell'IA nella MP ha già dimostrato un enorme potenziale nel migliorare la diagnosi, il trattamento e la prevenzione delle malattie portando a una rivoluzione nel modo in cui le scienze mediche vengono oggi praticate.

BIBLIOGRAFIA

- [1] S.J. Russell, P. Norvig, *Artificial Intelligence: A Modern Approach*, 4th Ed., Pearson (Hoboken, New Jersey), 2021, ISBN 978-0134610993.
- [2] M.P. Amisha, M. Pathania, V.K. Rathaur, *J. Family Med. Prim. Care*, 2019, **8**(7), 2328.
- [3] R. Moeini, Z. Memariani *et al.*, *Daru.*, 2017, **25**(1), 7.
- [4] N. Naithani, S. Sinha *et al.*, *Med. J. Armed Forces India*, 2021, **77**(3), 249.
- [5] M. Tayefi, H. Esmaeili *et al.*, *Comput. Methods Programs Biomed.*, 2017, **139**, 83.
- [6] E.A. Madigan, O.L. Curet, M. Zrinyi, *Hum. Resour. Health*, 2008, **31**(6), 2.
- [7] E. Ahlqvist, P. Storm *et al.*, *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 2018, **6**(5), 361.
- [8] A. Visibelli, V. Cicaloni *et al.*, *Front. Mol. Med.*, 2022, **2**, 827340.

Artificial Intelligence and Precision Medicine to Improve the Human Health Care

Artificial intelligence (AI) in precision medicine (PM) enables the identification of personalized treatments for individual patients by considering their genetics and lifestyle. By analysing complex big data, AI identifies subtle correlations among the data, which are critical for developing personalized therapies and optimizing treatment strategies and patient outcomes.



TRE PROGETTI EUROPEI PER REALIZZARE BIOCATALIZZATORI PER OSSIDAZIONI NELL'INDUSTRIA

Vengono riportate informazioni su tre progetti europei dedicati allo sviluppo di biocatalizzatori per reazioni di ossidazione. Il progetto BioOX si concentra sulla creazione di biocatalizzatori basati su enzimi di monossigenasi a base di citocromo P450. Il progetto PEROXICATS sviluppa biocatalizzatori derivati da enzimi di funghi basidiomiceti. Infine, il progetto INDOX si focalizza su biocatalizzatori basati su ossidoriduttasi di origine fungina.



della chimica sostenibile, o *green chemistry*. Tuttavia, in passato, la bioossidazione catalitica era poco utilizzata a causa della limitata disponibilità di enzimi ossidativi robusti e selettivi. Uno dei principali problemi era la scarsa stabilità degli enzimi in ambienti ossidativi. Nei tre progetti menzionati, sono state utilizzate proteine enzimatiche derivate da batteri, funghi e animali, che hanno mostrato caratteristiche adatte all'impiego in processi industriali come biocatalizzatori di ossidazione [1].

Questa nota descrive tre progetti europei riguardanti lo sviluppo di biocatalizzatori per la bioossidazione, nei quali sono state coinvolte diverse industrie e università. In particolare, vengono riportate informazioni su due importanti aziende, attive anche in Italia, che hanno partecipato alla realizzazione di enzimi utilizzati come catalizzatori di bioossidazione: BiCT, coinvolta nel progetto BioOX, e Novozymes, che ha preso parte sia ai progetti PEROXICATS che INDOX.

La biocatalisi, che sfrutta enzimi o cellule come catalizzatori, rappresenta una strategia fondamentale

Il progetto BioOX e l'azienda BiCT

Il progetto europeo BioOX si è proposto di sviluppare biocatalizzatori per la sintesi e la trasformazione di alcoli, utilizzando ossigeno e riducendo l'impatto ambientale dei tradizionali processi di ossidazione chimica [2, 3]. Al progetto hanno partecipato 11 partner, tra cui l'azienda italiana BiCT e la multinazionale tedesca BASF. BiCT (Biological and Chemical Technology) [4], con sede a Villanova del Sillaro (Lodi), ha contribuito allo sviluppo di processi eco-efficienti e sicuri basati su catalizzatori di origine biologica.

Nel progetto BioOX sono stati impiegati enzimi ossidasi e monoossigenasi appartenenti alla famiglia del citocromo P450, capaci di ossidare alcoli in composti come acidi grassi idrossilati, alcheni e terpeni ossifunzionalizzati. Questi enzimi, presenti in batteri, funghi, piante e mammiferi, contengono un gruppo eme, una struttura che, tramite l'introduzione di ossigeno nelle molecole, ne aumenta la polarità.

Inoltre, gli enzimi sono stati immobilizzati su supporti specifici per aumentarne l'efficienza. Una tecnica avanzata, denominata "fermentatore in un pallone", ha ulteriormente migliorato l'attività enzimatica e la resa dei ceppi batterici ingegnerizzati. La famiglia delle monoossigenasi citocromo P450 (CYP o P450) si suddivide in diverse classi, a seconda del cofattore presente. Tra le classi principali troviamo le monoossigenasi eme-dipendenti, i citocromi P450 e le monoossigenasi flavina-dipendenti. Questi enzimi sono in grado di riconoscere e trasformare una vasta gamma di substrati, tra cui acidi grassi, terpeni, steroidi, prostaglandine, composti aromatici, solventi, farmaci, pesticidi e altri xenobiotici.

Il progetto PEROXICATS e l'azienda Novozymes

Il progetto europeo PEROXICATS (PERoxidase as BioCATalystS) [5, 6] ha coinvolto numerose industrie e università. Tra i partecipanti, l'azienda Novozymes A/S [7] ha svolto un ruolo centrale. Leader mondiale nel settore della bioinnovazione, con il 45% del mercato globale degli enzimi industriali, Novozymes ha sede a Bagsværd, in Danimarca, e si è recentemente fusa con Chr. Hansen, assumendo il nome Novopenis. L'azienda opera in 30 sedi in tutto il mondo, inclusa l'Italia, dove è presente a Monza sotto il nome Novozymes Italia Srl. I suoi oltre 700 prodotti trovano applicazione in più di 40 settori, migliorando i processi industriali, riducendo il consumo di acqua, energia e materie prime, e minimizzando la produzione di rifiuti. Novozymes è inoltre specializzata nella conversione della lignocellulosa e nelle reazioni avanzate di bio-ossidazione.

Il progetto PEROXICATS si è concentrato sullo sviluppo di nuove perossidasi fungine, enzimi derivati da funghi basidiomiceti, noti per la loro capacità di degradare la lignocellulosa e contribuire al riciclo

del carbonio negli ecosistemi. Questi enzimi, appartenenti alla classe delle ossidoreduttasi, sono stati impiegati in reazioni di ossidazione industriale e testati per il loro potenziale in settori come quello chimico e farmaceutico. L'introduzione di tali biocatalizzatori ha permesso all'industria europea di beneficiare di processi biotecnologici più eco-compatibili e a costi ridotti.

Gli enzimi sono proteine con capacità biocatalitiche che accelerano le reazioni chimiche, dimostrando un'elevata precisione nella selezione dei substrati. Tra questi, le ossidoreduttasi hanno attirato particolare interesse negli ultimi anni, grazie alla loro capacità di catalizzare il trasferimento di elettroni tra diversi substrati nelle reazioni redox. Per individuare enzimi con tali proprietà, gli scienziati hanno esplorato colture fungine provenienti da ambienti specifici ed estremi, selezionando i candidati più promettenti e valutandone le prestazioni catalitiche.

Il progetto INDOX e l'azienda Novozymes

Nel progetto INDOX (INDustrial OXidoreductases) [7], a cui hanno partecipato 17 enti tra industrie e università [8, 9], Novozymes ha collaborato con l'Università Federico II di Napoli per sviluppare ossidoriduttasi capaci di catalizzare reazioni industriali complesse. Gli enzimi candidati sono stati selezionati da diverse classi di ossidoriduttasi, tra cui eme-perossidasi, flavo-ossidasi e rame-ossididoriduttasi, ottenuti da genomi fungini.

Grazie a tecniche di ingegneria proteica e analisi computazionali, le proprietà catalitiche degli enzimi sono state migliorate, aumentando la loro stabilità. Sono stati inoltre adottati diversi approcci per ottimizzare le condizioni di reazione e le configurazioni del reattore, tra cui tecnologie di immobilizzazione e nuove reazioni a cascata enzimatica. Un esempio rilevante è la conversione del 5-idrossimetilfurfurale, un derivato della biomassa, in acido 2,5-furandicarbossilico (FDCA) attraverso una reazione a cascata intelligente di due enzimi ossidativi. Il FDCA è considerato una delle 12 sostanze chimiche chiave per la produzione sostenibile di polimeri, come poliestere e poliammidi. Le attuali tecnologie chimiche per la produzione di FDCA presentano una bassa selettività, portando alla formazione di sottoprodotti indesiderati.



Le nuove tecnologie enzimatiche sviluppate nel progetto INDOX hanno dimostrato un grande potenziale per l'ossidazione di substrati aromatici e la funzionalizzazione di molecole alifatiche e aromatiche, aprendo la strada a nuove applicazioni industriali.

Tra gli approcci innovativi di INDOX, le ossidoriduttasi fungine su cui si è lavorato rappresentavano una novità per la comunità scientifica, distinguendosi da altri tipi di enzimi studiati in precedenza. Questi catalizzatori si sono dimostrati particolarmente efficaci nell'ossidazione di substrati aromatici e nell'ossifunzionalizzazione di molecole alifatiche e aromatiche, caratterizzate da una bassissima reattività chimica.

BIBLIOGRAFIA

- [1] **CORDIS Results Pack on Bio-based innovation (europa.eu)**
- [2] **Biocatalizzatori per prodotti chimici più ecocompatibili | BIOOX Project | Results in brief | FP7 | CORDIS | European Commission (europa.eu)**
- [3] **Developing a validated technology platform for the application of oxygen dependent enzymes in synthesis and transformation of alcohols | BIOOX | Project | News & Multimedia | FP7 | CORDIS | European Commission (europa.eu)**
- [4] **Success Stories - Bict**
- [5] **Peroxicats: PEROXidases as bioCATalystS**
- [6] **Enzimi fungini per applicazioni industriali | PEROXICsATS Project | Results in brief | FP7 | CORDIS | European Commission (europa.eu)**
- [7] **INDOX - industrial oxidoreductases (indoxproject.eu)**
- [8] **NOVOZYMES ITALIA SRL Company Profile | MONZA, MONZA E BRIANZA, Italy | Competitors, Financials & Contacts - Dun & Bradstreet (dnb.com)**
- [9] **Optimized oxidoreductases for medium and large scale industrial biotransformations | INDOX | Project | News & Multimedia | FP7 | CORDIS | European Commission (europa.eu)**

**NUOVA
ENERGIA PER LA
TUA AZIENDA**

AGICOM S.r.l.

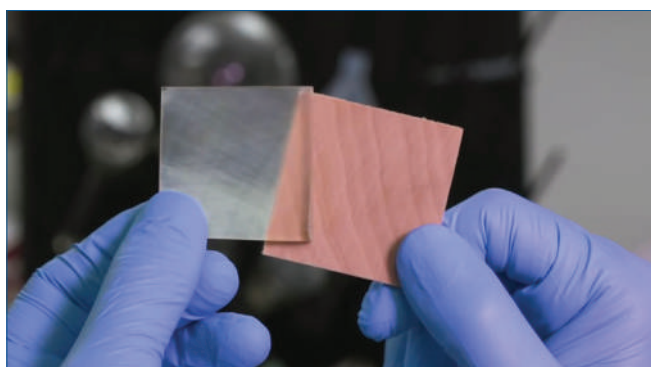
CONCESSIONARIA DI PUBBLICITÀ PER QUESTA RIVISTA
www.agicom.it





LEGNO E BAMBÙ TRASPARENTI

Il legno e il bambù trasparenti saranno materiali 'smart' in un prossimo futuro. Numerosissime pubblicazioni e reviews hanno evidenziato sia i procedimenti per ottenerli, sia le possibili applicazioni: finestre a risparmio di energia, schermi di cellulari, componenti elettronici, nanomateriali ecosostenibili e molti altri utilizzi.



Introduzione

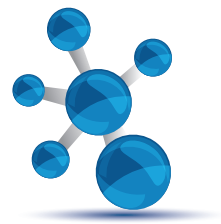
Attualmente i principali materiali trasparenti sono costituiti dai vetri e da alcune plastiche. Si tratta di manufatti non rinnovabili o rinnovabili con elevati consumi di energia e molto spesso privi di biodegradabilità. Il settore delle costruzioni, che nel suo insieme contribuisce a circa un terzo del consumo globale di energia e a un rilevante effetto serra, pone alcuni problemi di non semplice risoluzione legati al loro utilizzo. Ad esempio, la produzione industriale dei vetri causa l'emissione di circa 25 kt/anno di CO₂. Inoltre, la loro alta conducibilità termica comporta un'elevata dissipazione di calore. Se, infine, teniamo conto dei rischi di sicurezza legati alla fragilità dei vetri e della limitata disponibilità di materiali plastici trasparenti si comprende l'attuale notevole interesse per il legno e il bambù trasparenti sia a livello di ricerca scientifica, sia nei più svariati settori applicativi [1]. Il legno e il bambù non sono trasparenti alla luce principalmente a causa della presenza di lignina, che conferisce loro i tipici colori. L'estrazione della lignina o dei suoi

gruppi cromofori rende il materiale un bio-composito bianco, ma non trasparente a causa dell'eccessiva diffusione della luce dovuta alla presenza di numerosissimi canali. Se si riempiono i canali con un polimero a indice di rifrazione molto vicino a quello della cellulosa, si ottiene il cosiddetto legno o bambù trasparente, più precisamente un composto multicomponente.

Il legno trasparente è un materiale economico, ecosostenibile, rinnovabile, leggero e con buone proprietà meccaniche (ad es. ha un elevato carico di rottura). Ha però anche alcuni punti deboli, quali la sensibilità agli agenti atmosferici e la fotodegradabilità, migliorabili solo mediante sua funzionalizzazione.

Il bambù è ancora migliore rispetto al legno quale materiale di partenza dal punto di vista ambientale: rilascia più ossigeno (+35%) rispetto agli alberi e presenta una superiore resistenza alla corrosione, all'abrasione, all'acqua, agli insetti e alle muffe. In sintesi, è un materiale bio-composito a basso costo, alta efficienza e prestazioni elevate, ottimo per la sua trasformazione in bambù trasparente.

Negli ultimi anni (meno di un decennio) sia per il legno sia per il bambù si sono sviluppate numerose ricerche ed applicazioni mirate all'ottenimento e all'utilizzo di materiali di buona trasparenza. In particolare, molte sono state le possibili modifiche e le molteplici applicazioni del legno e del bambù trasparenti comparse nella letteratura scientifica e brevettuale, dai materiali trasparenti colorati a quelli magnetici, da quelli elettricamente conduttivi a quelli fluorescenti, da quelli luminescenti a quelli



reattivi agli stimoli esterni o schermanti ai raggi UV ecc. Particolarmente interessante risulta il loro utilizzo per finestre a risparmio di energia.

Il legno

Il legno è un materiale bio-composito tipico delle piante vascolari, formato, cioè, in prevalenza dalle pareti derivanti da lunghe cellule vegetali morte disposte in fasci longitudinali, e costituisce il fusto delle piante a crescita secondaria, cioè radiale (alberi, arbusti, liane e alcune erbe) [2]. Da un punto di vista istologico, questa crescita secondaria è evidenziata da un aumento del diametro del fusto, che è tipico delle gimnosperme e delle dicotiledoni. Il legno è caratterizzato da una struttura gerarchica unica e complessa con una peculiare micro-, meso- e macro-porosità. Sia le fibre, sia i canali aperti sono orientati nella direzione di crescita dell'albero. Il legno presenta un'elevata anisotropia e una bassa densità, una facilità di lavorazione, un'elevata resistenza meccanica e tenacità, un'eccellente biodegradabilità ecc. Si tratta di un materiale abbondante e rinnovabile, un eccellente isolante termico e una risorsa versatile.

I tre principali componenti del legno sono la cellulosa (ca. 45%), l'emicellulosa (ca. 30%) e la lignina (ca. 23%). La cellulosa è caratterizzata da zone cristalline, in cui le catene macromolecolari lineari di unità di *D*-glucosio sono altamente allineate in fasci paralleli, e da zone amorfe ad elevato disordine.

Il legno trasparente

L'idea originale è relativamente recente [3], intesa però solamente come un nuovo approccio allo studio funzionale della struttura del legno, in analogia a quanto fatto già da molto tempo in anatomia. Solo nel 2016 vengono pubblicate sia dal Royal Institute of Technology (KTH) svedese [4], sia dalla University of Maryland (USA) [5] le prime ricerche indirizzate all'ottenimento di un nuovo materiale trasparente 'smart' dalle molteplici possibilità applicative. A testimonianza della sua importanza in termini di strategie sostenibili volte a conseguire la 'carbon neutrality', in meno di un decennio si è acceso un grande interesse non solo scientifico sull'argomento con numerosi articoli, reviews e brevetti. Il legno trasparente presenta una trasmittanza nel visibile superiore all'80%, una luce diffusa (*haze*) spesso

maggiore del 70%, che lo rende traslucido, e una conducibilità termica inferiore a $0,23 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, che gli conferisce l'interessante proprietà di essere un ottimo isolante. Può essere perciò considerato un 'building block' [1] per la progettazione di nuovi sistemi funzionali e strutturali quali, ad esempio, finestre a risparmio di energia, celle solari, schermi per cellulari e computer, componenti optoelettroniche, interi edifici in grado di trasmettere la luce, materiali per l'industria automobilistica, materiali luminescenti, magnetici, decorativi ecc.

Il bambù trasparente

Negli stessi ultimi anni si è molto sviluppato un settore di ricerca parallelo focalizzato sul bambù trasparente, la cui principale caratteristica, molto positiva, è di provenire da biomasse velocemente rinnovabili, conformi all'assunto di uno sviluppo sostenibile ed ecologico, e da processi a basso costo e poco inquinanti.

Il bambù è un materiale completamente differente dal legno. Si tratta di un'erba appartenente alla famiglia delle poacee e alla classe delle monocotiledoni, che comprende almeno 1400 specie e un centinaio di generi [1]. Ha un'elevata velocità di crescita e un'alta resa (4 volte quella del legno). Può raggiungere altezze superiori a 40 metri con un alto 'aspect ratio' e viene attualmente coltivato nel mondo su una superficie complessiva di circa 36 milioni di ettari [6]. A differenza del legno ha un fusto cavo molto duro e fibroso con un alto contenuto in silice e un aspetto esterno legnoso con nodi e internodi. È caratterizzato dagli stessi componenti primari del legno (cellulosa, emicellulosa e lignina in gerarchia altamente allineata) e da buone proprietà chimiche e fisiche, oltre ad eccellenti proprietà meccaniche e a una buona resistenza al fuoco.

Molto utilizzato è il bambù Moso (*Phyllostachys edulis*) che può raggiungere un'altezza di 15 metri e un diametro di 12-15 cm, una velocità di crescita di 60 cm/giorno e un ciclo di crescita di 3÷5 anni a confronto con i 20÷60 anni del legno.

I procedimenti per l'ottenimento del legno trasparente

Per l'ottenimento del legno trasparente è necessario effettuare la rimozione (totale o parziale) della lignina o dei suoi gruppi cromofori e, successivamente,

riempire i numerosi canali del legno con un'adatta resina polimerica trasparente a indice di rifrazione molto vicino a quello della cellulosa. La classe di polimeri di gran lunga più utilizzati finora è rappresentata dalla famiglia delle resine epossidiche. In alternativa e in misura molto minore sono stati utilizzati il polimetilmetacrilato e altri poliacrilati, il polivinilalcol, le resine poliesteri insature ecc.

I problemi più critici riguardano l'eliminazione della lignina. Se si vuole operare per una delignificazione completa, ci si deve aspettare un elevato consumo di reagenti e di energia, lunghi tempi di processo (6÷12 h), difficoltà di riciclo e problemi ambientali, oltre a un notevole peggioramento delle proprietà meccaniche rispetto al legno originario. Se si sceglie l'eliminazione solo parziale della lignina, si registrano tempi di processo ridotti e migliori proprietà meccaniche, ma restano i problemi legati ai grandi volumi delle soluzioni di

reagenti tossici e alle conseguenti difficoltà del loro smaltimento [1].

In alternativa, si può procedere all'eliminazione dei soli gruppi cromofori della lignina con il mantenimento della stessa, ottenendo una riduzione significativa dei tempi di processo e un netto miglioramento delle proprietà meccaniche. Restano però i problemi legati alle grandi quantità di reagenti (anche se non tossici) da smaltire e all'elevato consumo di energia. Il mantenimento della maggior parte della lignina, che è un naturale legante per cellulosa ed emicellulosa e fornisce loro una robusta impalcatura avvolgendo efficacemente le microfibrille di cellulosa, permette di conservare le buone proprietà meccaniche del legno, favorendo anche la successiva infiltrazione della resina polimerica. I relativi trattamenti chimici possono essere effettuati sia con acidi, sia con alcali a

caldo. Si è anche tentato un trattamento con enzimi [7], potenzialmente un processo molto interessante dal punto di vista ambientale.

Il legno trasparente risultante si comporta da ottimo isolante con una conducibilità termica pari a $0,157 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ se rivestito superficialmente con ossido di zinco. Senza rivestimento, la conducibilità è comunque molto bassa ($0,195 \div 0,225 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$).

Un rilevante miglioramento dei procedimenti per ottenere il legno trasparente è stato pubblicato di recente [8] da ricercatori della University of Maryland, USA. Un asse di legno di balsa lungo un metro e spesso un millimetro, trattato superficialmente con un sottilissimo strato di NaOH al 30% e spennellato successivamente con H_2O_2 al 30%, è stato sottoposto a irraggiamento con lampada UV per 12 h ottenendo una sbiancatura totale a testimonianza della

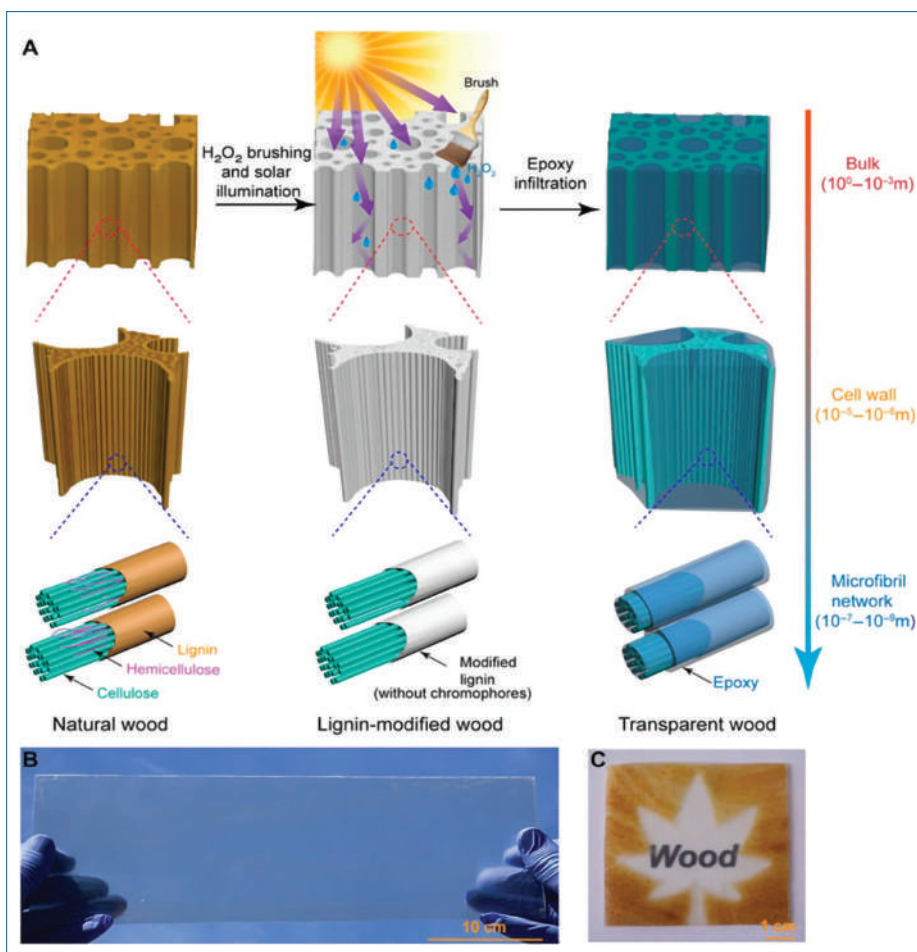
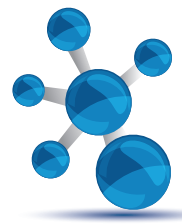


Fig. 1 - A) Illustrazione schematica del procedimento di fabbricazione del legno trasparente; B) immagine digitale di un'asse di legno trasparente (400x110x1 mm) lungo la direzione delle fibre; C) immagine digitale del legno trasparente decorato con una foglia d'albero [8]



completa rimozione dei gruppi cromofori della lignina. Successivamente, il legno è stato impregnato sottovuoto con una resina epossidica e mantenuto a T_{amb} fino a suo completo indurimento, ottenendo così un legno trasparente di ottima qualità.

In Fig. 1 sono illustrate schematicamente le varie fasi del procedimento utilizzato e le caratteristiche di trasparenza e di decorazione ottenute. Possono essere utilizzati svariati tipi di legno, dalla quercia alla balsa.

Questa procedura consente di avere più del 90% di luce trasmessa e un haze superiore al 60%. Se usato come materiale per finestre al posto del vetro, il nuovo sistema multicomponente risulta molto più resistente alla rottura, più leggero, con proprietà isolanti di gran lunga superiori e un processo di produzione con minor consumo di energia e di sostanze chimiche, e tempi minori.

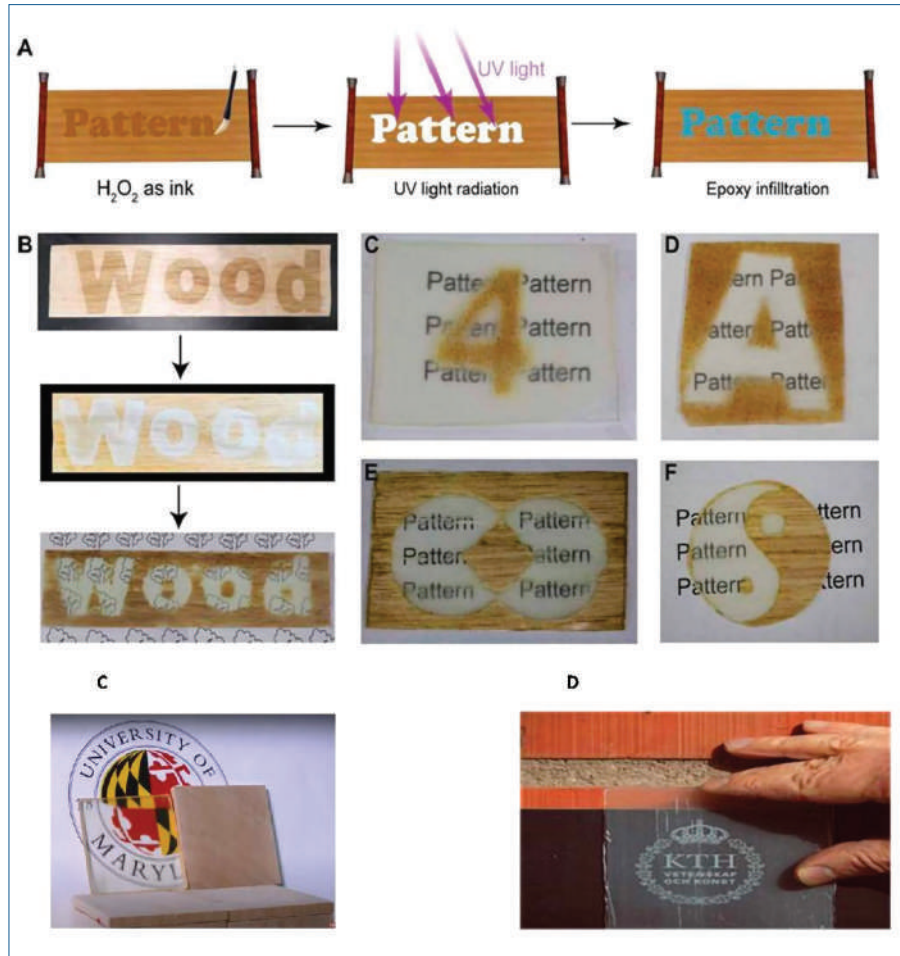


Fig. 2 - Elementi decorativi inseriti nel legno trasparente. A e B da [8]; C da video della University of Maryland; D da foto di Peter Larsson, KTH.

Applicazioni del legno trasparente

Molte sono le possibili modifiche e applicazioni del legno trasparente comparse nella letteratura scientifica e brevettuale di questi ultimi anni: dal legno trasparente colorato a quello magnetico, da quello elettricamente conduttivo a quello fluorescente, da quello luminescente a quello reattivo agli stimoli esterni o schermante ai raggi UV ecc.

A titolo d'esempio, la Fig. 2 riporta alcune applicazioni di tipo decorativo.

Il bambù trasparente

I principali problemi da affrontare per l'ottenimento di bambù trasparente sono legati alla sua elevata densità (ca. $0,65 \text{ gcm}^{-3}$) in confronto ai valori molto più bassi dei tipi di legno utilizzati (ca. $0,1 \div 0,4 \text{ gcm}^{-3}$). La sua alta densità, abbinata alla bassa porosità, comporta una bassa permeabilità ai reagenti, con tempi più lunghi di rimozione della lignina o dei suoi gruppi

cromofori, maggiori quantità di prodotti chimici e minore velocità di riempimento della resina polimerica. Analogamente al legno, i trattamenti chimici si effettuano con acidi o alcali ad alte temperature.

I risultati finora ottenuti sul bambù trasparente sono comunque molto buoni, con trasparenze fino al 92,4% nel caso di eliminazione della lignina con acidi o alcali, e fino all'87% quando si eliminano soltanto i suoi gruppi cromofori. Anche le proprietà meccaniche risultanti sono eccellenti. La conducibilità termica misurata per il bambù trasparente è pari a $0,203 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, sostanzialmente analoga a quella del vetro trasparente ($0,195 \div 0,225 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$), e pari a 1/5 di quella del vetro comune ($0,974 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$).

Per il bambù trasparente vengono ipotizzate applicazioni analoghe a quelle intraviste per il legno trasparente: finestre a ridotte dispersioni di calore, elementi decorativi, materiali fluorescenti, lumines-

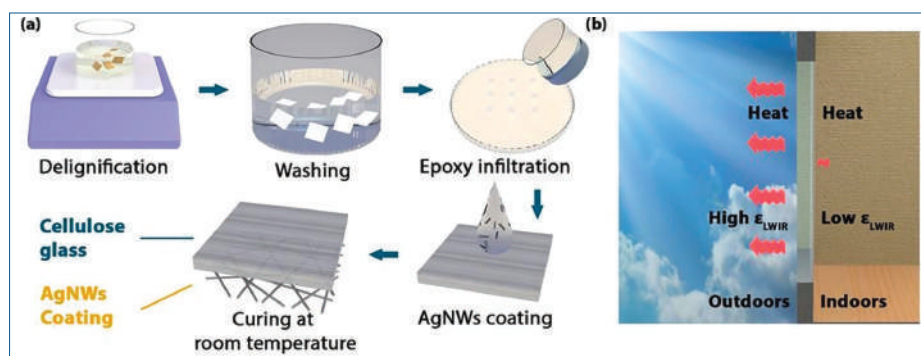


Fig. 3 - Rappresentazione schematica del meccanismo con cui opera una finestra a raffreddamento radiativo in bambù trasparente (T_{est} : 55 °C, T_{int} : 21 °C) [9]

scenti, magnetici per aggiunta di opportuni additivi, apparecchiature optoelettroniche ecc. [1].

A titolo d'esempio, è qui riportata un'applicazione molto interessante che si riferisce alle finestre a risparmio di energia [9]. Sulla faccia esterna di una lastra di bambù trasparente viene depositato un nanofilo di argento che consente di realizzare un ottimo raffreddamento radiativo sulla faccia interna, come evidenziato in Fig. 3. L'emissività infrarossa ad alte lunghezze d'onda (ϵ_{LWIR}) risulta infatti pari a 0,3 su una faccia della finestra e a 0,95 sull'altra faccia.

Il risparmio di energia così ottenuto risulta migliore (fino all'89%) rispetto al vetro a basso consumo energetico. Inoltre, a confronto con i complessi processi tradizionali di modifica superficiale del vetro, le finestre a risparmio di energia basate sul bambù trasparente risultano essere molto più facili da fabbricare, più economiche ed ecocompatibili, dimostrando di possedere un notevole potenziale applicativo.

Prospettive future

Sia per il legno trasparente, sia per il bambù trasparente si aprono interessanti prospettive applicative in un futuro molto prossimo. Per entrambi i materiali, che sono almeno tre volte più forti delle plastiche trasparenti e almeno dieci volte più resistenti del vetro, si può pensare a un loro utilizzo quali schermi dei cellulari, finestre e tetti in grado di supportare carichi e di regolare scambi di calore, componenti elettronici flessibili, nanomateriali *green* ecc. Un'importante evoluzione in termini di ecosostenibilità è di recente comparsa nella letteratura scientifica ad opera dei ricercatori del KTH Royal Institute of Technology, che hanno utilizzato una bioplastica derivante dalle bucce degli agrumi (poliacrilato di limonene). Il processo non utilizza solventi e tutti i prodotti chimici impiega-

ti derivano da fonti biologiche [10].

Nel settore del legno e del bambù trasparenti sono molto attivi due gruppi di ricerca italiani, presso l'Università di Sassari (Alberto Mariani) e il Politecnico di Torino (Giulio Malucelli), che partecipano al Programma Europeo Al-TranspWood, in cui la ricerca sul legno trasparente è abbinata all'impiego dell'intelligenza artificiale.

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. Mariani, G. Malucelli, *Materials*, 2022, **15**, 9069, <https://doi.org/10.3390/ma15249069>.
- [2] Wood, *Encyclopedia Britannica*, <https://www.britannica.com/Science-Tech>.
- [3] S. Fink, *Holzforschung*, 1992, **46**, 403.
- [4] Y. Li *et al.*, *Biomacromolecules*, 2016, **17**, 1358, <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b00145>.
- [5] M.W. Zhu *et al.*, *Adv. Mater.*, 2016, **28**, 5181, <https://doi.org/10.1002/adma.201600427>.
- [6] Bamboo, *Encyclopedia Britannica*, <https://www.britannica.com/Science-Tech>.
- [7] J. Zhou, Y. Wu, *China For. Prod. Ind.*, 2020, **57**, 17.
- [8] Q. Xia *et al.*, *Science Adv.*, 2021, **7**, eabd7342, <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd7342>.
- [9] C. Zhou *et al.*, *ACS Mater. Lett.*, 2021, **3**, 883, <https://doi.org/10.1021/acsmaterialslett.1c00272>.
- [10] C. Montanari *et al.*, *Adv. Sci.* 2021, **8**, 2100559, <https://doi.org/10.1002/adv.202100559>.

Transparent Wood and Bamboo

Transparent wood and bamboo will be 'smart' materials in the near future. A great number of publications and reviews have highlighted both the processes to obtain them and the possible applications: energy-saving windows, mobile phone screens, electronic components, eco-sustainable nanomaterials, and many other uses.



PROGETTO REACH4TEXTILES E VIGILANZA DEL MERCATO TESSILE EUROPEO

Il progetto europeo REACH4TEXTILES (R4T) è servito a delineare lo stato dell'arte dei controlli eco-tossicologici effettuati sugli articoli tessili presenti nel mercato europeo e a condividere le migliori pratiche di campionamento e di analisi. Sono stati inoltre sviluppati strumenti innovativi che potranno essere utilizzati dagli stakeholder e dalle autorità di controllo per una più efficiente sorveglianza del mercato.

Introduzione

Negli ultimi cento anni i prodotti tessili sono cambiati notevolmente in forma, struttura e qualità, passando al contempo da semplici articoli d'abbigliamento a strumenti di comunicazione sociale. La chimica ha contribuito a questo cambiamento creando nuove sostanze utili ad ottenere caratteristiche innovative per i tessuti. Tuttavia, nonostante l'attenzione verso una chimica sempre più verde e sicura, ancora oggi nel mercato manifatturiero tessile si registra l'impiego di oltre un centinaio di sostanze considerate pericolose per la salute dell'uomo o per l'ambiente.

In Europa le recenti politiche di sviluppo legate alla 'Strategia in materia di sostanze chimiche sostenibili' [1] e alla 'Strategia per un tessile sostenibile e circolare' [2], rendono il mercato manifatturiero degli articoli tessili all'avanguardia in termini di sicurezza per i consumatori e di impatti ambientali. Ciononostante, gli sforzi realizzati dalle aziende produttrici europee non coprono tutte le garanzie per il consumatore, essendo il mercato tessile dominato dalle importazioni, soprattutto asiatiche. Ne sono una conferma i rapporti del RAPEX (sistema comunitario di informazione rapida sui prodotti non alimentari e che rappresentano un rischio grave per la salute e la sicurezza dei consumatori), nei quali la categoria degli articoli tessili è una delle più segnalate, con il 20% dei casi riguardanti sostanze chimiche pericolose. Non mancano, infine,

studi scientifici ed indagini di mercato da parte di Organizzazioni Non Governative, che mettono in allarme sulla presenza di sostanze chimiche nocive riscontrate negli articoli d'abbigliamento, soprattutto se provenienti da mercati di fabbricazione extra-europea e appartenenti alla fascia di prodotti *fast fashion*, ovvero realizzati in enormi quantità e con un basso prezzo di vendita al dettaglio.

Tutti questi aspetti hanno creato i presupposti per lo sviluppo del progetto *REACH4Textiles - Better market surveillance for textile products* [3], finanziato dalla Commissione Europea (Direzione Generale XII Tender EC Contract no. S12.851459/S12.849063) al team guidato dal centro belga Centexbel-VKC e composto dai partner EURATEX (European Apparel and Textile Confederation), Associazione tedesca del Tessile e della Moda (Textile und Mode T+M) e Associazione Tessile e Salute. Il progetto è stato citato dalla Commissione Europea, all'interno del Rapporto *Transition pathway for the textiles ecosystem* [4], come possibile strumento per una vigilanza efficace del mercato europeo e di supporto al percorso di transizione per l'ecosistema tessile.

Obiettivi del progetto R4T

Il progetto R4T si è posto i seguenti principali obiettivi:

- Obiettivo 1: escludere dal mercato unico europeo i prodotti non conformi

	Test totali	n.c.	%
Ammine cancerogene	279	1	0,4
IPA	215	3	1,4
Ftalati	191	8	4,2
APEO	440	14	3,2
Metalli	397	3	0,8
Nichel rilasciato	43	3	7,0
SCCP/MCCP	170	3	1,8

Tab. 1 - Risultati dei test analitici riferiti alle classi di sostanze

Partendo dalle *best practice* già in uso, sono stati analizzati gli ostacoli ad un'efficace sorveglianza del mercato da parte delle autorità di controllo, fornendo proposte concrete a problemi quali la strategia di selezione degli articoli da controllare e delle metodologie analitiche, l'interpretazione dei risultati dei test.

- Obiettivo 2: sostenere l'applicazione del regolamento 2019/1020

Nelle nazioni europee la vigilanza del mercato avviene attraverso gruppi informali di autorità di vigilanza del mercato, denominati gruppi di cooperazione amministrativa (AdCos) [5], coinvolgenti gli stakeholder di settore maggiormente rilevanti come industria, PMI e laboratori di prova. Per il tessile tale cooperazione attualmente non esiste su scala europea, se non limitatamente al Regolamento CE 1007/2011 [6] riguardante l'etichettatura di composizione degli articoli tessili. Considerate le crescenti quantità di indumenti presenti sul mercato europeo, ad oggi oltre 62 milioni di tonnellate stimate a 102 nel 2030 [7], emerge per il settore tessile la necessità di maggiori controlli di tipo eco-tossicologico, di una più razionale collaborazione fra le autorità, oltre all'integrazione degli strumenti di controllo.

- Obiettivo 3: aumentare competenze e conoscenze
Il progetto REACH4Textiles è servito a creare consapevolezza in materia di sorveglianza del mercato, diffondere le lezioni apprese e riunire gli attori della vigilanza per scambiare le migliori pratiche di controllo per gli articoli del tessile-abbigliamento.

Una parte delle attività è stata dedicata alla preparazione di materiale formativo per le autorità preposte e per gli stakeholder, sono stati inoltre organizzati workshop per la descrizione dei risultati alle autorità centrali (ECHA Forum, EU Commission, EUPCN) e a quelle nazionali.

Struttura di vigilanza del mercato tessile europeo

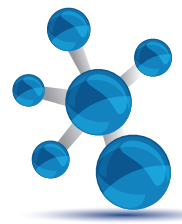
Nella prima parte del progetto sono stati redatti due rapporti tecnici sulla vigilanza del mercato tessile europeo. Il primo report descrive lo stato dell'arte delle *autorità preposte*, delineando le potenziali sovrapposizioni di ruoli e il livello di collaborazione tra i diversi enti. Il secondo rapporto valuta invece le *pratiche di sorveglianza* del mercato, concentrandosi in particolare sull'applicazione dell'etichettatura tessile, Regolamento CE 1007/2011 e sulla conformità al REACH, Regolamento CE 1907/2006 [8]. I report evidenziano che, sebbene la maggior parte dei Paesi disponga di un solido sistema di monitoraggio e di applicazione della legislazione, l'efficacia dei controlli risulta essere limitata da diversi fattori, quali la frammentazione delle responsabilità tra autorità diverse che collaborano poco (sono state identificate in tutta Europa ben 99 autorità nazionali di vigilanza preposte al controllo dell'etichettatura e delle conformità al REACH dei prodotti tessili), le ridotte competenze tecniche e analitiche, la scarsità di fondi economici.

I rapporti suggeriscono infine le modalità per migliorare l'efficienza e l'efficacia delle pratiche di vigilanza del mercato, tra cui:

1. un approccio armonizzato dei controlli basato su un'analisi del rischio condivisa
2. un organismo europeo, tipo AdCo, specifico per il settore chimico-tessile
3. l'esecuzione di workshop formativi per incrementare le competenze tecniche
4. uno sviluppo finanziario dedicato ai controlli
5. l'utilizzo di banche-dati interoperabili in tutti gli Stati membri per la condivisione dei dati.

Metodologia di campionamento e analisi degli articoli basata sul rischio

Nell'ambito del progetto è stato sviluppato e testato un approccio di *campionamento basato sul rischio* che potrà essere di supporto alle autorità di sorve-



CODICE CAMPIONE

ID Campione #

MATERIALE/ TRATTAMENTI SPECIALI

50% poliestere, 32% pollammide, 18% elasthan

COMPONENTI

- Tessuto principale a fiori
- Fodera nera
- tessuto a maglia nero
- Imbottitura
- Elastico toracico
- Elastico nero della spallina
- Elastico a fiori della spallina

MADE IN

"paese di origine"

TEST

1+2+3+5+6+7: Bisfenoli, Chinolina, NPEO

1-3: Ammine cancerogene

5-7: IPA

4: Organostannici

Fig. 1 - Esempio di articolo complesso

gianza per selezionare gli articoli con le maggiori probabilità di contenere sostanze chimiche pericolose, in quantità superiori rispetto ai limiti di legge. Nella metodica sviluppata il rischio è correlato sia ad aspetti costruttivi che di origine e provenienza del prodotto. Alcune specifiche risultano infatti essere più critiche rispetto ad altre (ad esempio ma-

teriali spalmati in polivinile/poliuretano, articoli con stampe, articoli in pelle, in lana riciclata). Se l'articolo è complesso, ovvero composto da più parti in differente materiale, risulta inoltre importante testare separatamente le singole componenti. La Fig. 1 mostra un esempio di articolo complesso, esaminato nel corso del progetto e i test effettuati.

MATRICE DEI TEST BASATI SUL RISCHIO	AMMINE CANCEROGENE																
	FALATI	NPEO	CAQUAD	IPA	PTC	CRONIO VI	COMPOSTI ORGANOSTANNICI	DMF	PIUABO	SCP/NOCP	FORMALDEDE	CHINOLINA (MATERIALE SINTETICO)	SILISSANI	NICKEL	BISFENOLI	PCP	
TESSUTI COLORATI (MEDIO ORIENTE)	Orange	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
STAMPE	Orange	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
PARTI IN PLASTICA, GOMMA (DENTI CERNIERE, FIBBE, BOTTONI)	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
TESSUTI RESISTENTI ALL'ACQUA E REPELLENTI	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
TESSUTI CON FINITURA NO STIRO	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
MATERIALI RIVESTITI IN PU/STAMPE IN PU	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
MATERIALI RIVESTITI IN PVC	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
PELLE	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
PA/ELASTANO MISTE	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
LANA, LANA RICICLATA	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
PARTI METALLICHE	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
PARTI ELASTICHE	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
SCHIUMA	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
SILICONE DALLA CINA	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green
SETA STAMPATA	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green

LEGENDA:

- RILEVANTE PER I TEST
- TESTARE SOLO SU MATERIALI RICICLATI E/O ARTICOLI PRODOTTI IN PAESI DEL MEDIO ORIENTE
- SOLO PARTI IN PLASTICA MORBIDA
- SOLO PELLE RIVESTITA
- SOLO CONTATTO DIRETTO CON LA PELLE
- PES E MATERIALI RICICLATI

Fig. 2 - Matrice per l'esecuzione dei test di laboratorio basati sul rischio

METODI ANALITICI REACH4TEXTILES	
•	AMMINE CANCEROGENE: EN 14362-1 (2017) per i tessuti e EN 17234-1 (2015) per la pelle
•	FTALATI: CPSC CH-C1001-09.4 (2018) per plastiche e EN 14389 per i tessuti
•	NPEO: ISO 18218-1 (2015) per la pelle e ISO 18254-1 (2016) per i tessuti
•	CADMIO: EN 1122 o US16 CFR1303 CPSC CH-E1001-08.3 (2012); CH-E1002-08.3 (2012); CH-E1003-09.1 (2011)
•	IPA: AIPS GS 2019.01
•	PFC: ISO 23702-1 (2018)
•	CROMO VI: EN ISO 17075-1 o 2 (2015), cromo VI restrizione CMR 1 mg/kg DIN 38405:1987 o EN ISO 16711-2 per Cr VI nei tessuti, metodo invecchiamento A2
•	COMPOSTI ORGANOSTANNICI: ISO/TS 16179 (2012)
•	DMF: ISO 17131 (2019)
•	PIOMBO: US16 CFR1303 CPSC CH-E1001-08.3 (2012); CH-E1002-08.3 (2012); CH-E1003-09.1 (2011)
•	SCCP: ISO 18219-1, MCCP: ISO 18219-2 (pelle)
•	SCCP/MCCP: ISO 22818 (2021) (tessili)
•	FORMALDEIDE: ISO 14184-1 (2011)
•	CHINOLINA: DIN 54231
•	NICKEL: EN 1811:2023-04
•	BISFENOLI: Estrazione con THF, analisi con LCMSMS (1h 60°C), metodo analitico Centexbel
•	PENTACLOROFENOLI: ISO 14041 (2004) per i tessuti e ISO 17070 (2015) la pelle

Fig. 3 - Metodi analitici selezionati nel R4T. MCCP: paraffine clorurate a catena media; SCCP: paraffine clorurate a catena corta; DMF: dimetilformamide; IPA: idrocarburi policiclici aromatici; NPEO: nonilfenoli etossilati; PFC: perfluorocarburi

La tipologia di test da eseguire sui diversi articoli o sulle parti di articoli complessi, è stata definita utilizzando la *matrice* riportata in Fig. 2 e sviluppata nell'ambito del lavoro. Tale matrice permette agli addetti ai lavori di identificare le analisi più idonee, sulla base della composizione e delle caratteristiche specifiche dei manufatti, seguendo, anche in questo caso, un approccio basato sul rischio.

La definizione dei *metodi di prova* da utilizzare per l'esecuzione delle analisi è stato un passo fondamentale per poter confrontare i risultati ottenuti dai diversi laboratori di prova. Sulla base dei contributi scientifici di diversi esperti e tramite il confronto con le autorità di vigilanza, sono stati selezionati prevalentemente metodi standardizzati, basati su norme EN o ISO e riportati in Fig. 3.

Campagne di sorveglianza del mercato

Tanto l'approccio di campionamento basato sul rischio quanto la scelta delle metodiche analitiche più idonee, sono stati messi a punto con due campagne acquisti di articoli d'abbigliamento, eseguite nei Paesi di appartenenza dei partner di progetto (Belgio, Germania e Italia), suddividendo gli acquisti fra negozi fisici e negozi on-line.

Per la prima campagna sono stati selezionati 80 prodotti su cui testare diverse sostanze chimiche, per un totale di 955 test. Sono state riscontrate in

tutto 10 non conformità (rispetto al limite di legge). In particolare sono stati ritrovati nonilfenolo etossilati (NPEO), paraffine clorurate a catena media (MCCP, paraffine policlorurate con catena di carbonio compresa fra C14 e C17), cromo (VI), ftalati e dimetilformamide (DMF).

Nella seconda campagna sono stati acquistati nuovamente 80 campioni, ma, grazie ad un affinamento dell'approccio basato sul rischio sviluppato in precedenza, sono state riscontrate un maggior numero di non conformità, con 33 risultati analitici al di sopra dei limiti di legge. Oltre alle sostanze già riscontrate nel primo campionamento, si registrano paraffine clorurate a catena corta (SCCP, paraffine policlorurate con catena di carbonio compresa fra C10 e C13), composti poliaromatici (naftalene, fenantrene, pirene ecc.), cadmio e nichel. Inoltre, nella seconda campagna è stata presa in considerazione la nuova proposta di restrizione sui bisfenoli, sostanze presenti nell'industria tessile. In Fig. 4 si riportano alcuni esempi di sostanze analizzate. Sono stati ricercati i bisfenoli A, B, F, S, AF su articoli in poliammide (pa), pa+elastan, po-

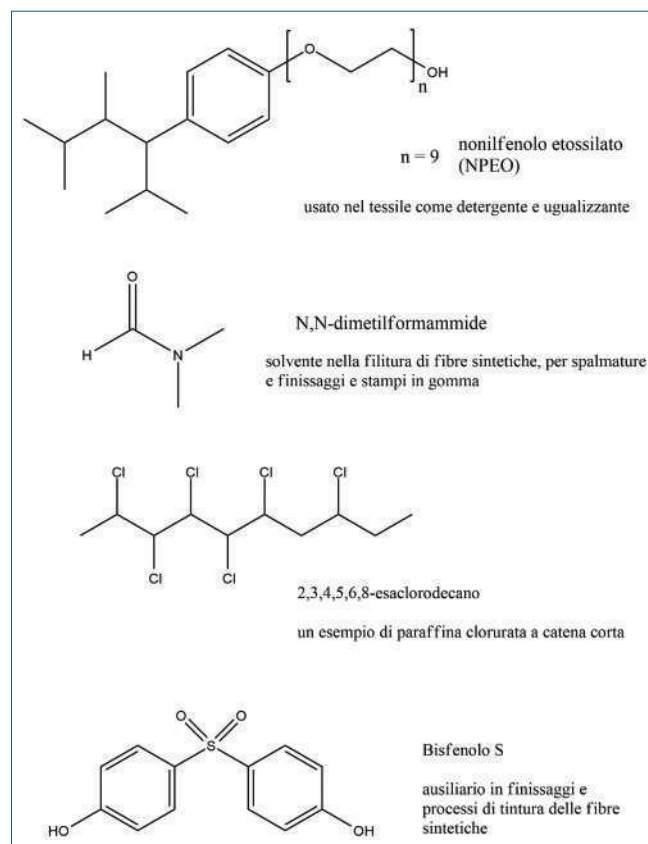
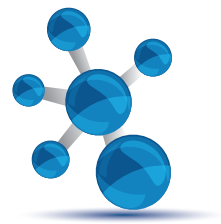


Fig. 4 - Alcune delle sostanze analizzate negli abiti acquistati



liestere (pes) e pes riciclato. Su 150 test eseguiti, 15 (il 10%) sono risultati superiori al limite indicato nella proposta ed attualmente al vaglio dell'ECHA (Agenzia Europea delle Sostanze Chimiche), con valori a volte elevati soprattutto in riferimento al bisfenolo S.

Nella seconda campagna, infine, numerosi articoli presentavano valori non conformi per più parametri, a differenza di quanto riscontrato nel primo campionamento. L'affinamento dell'approccio basato sul rischio si è mostrato quindi funzionale ad una migliore selezione dei campioni e dei test da eseguire.

I risultati complessivi delle due campagne, in numeri, possono essere così riassunti:

- Totale test eseguiti: 2.374; totale risultati sopra i limiti di legge: 43; tasso di non conformità (n.c.): 1,8%
- Totale articoli testati: 160; totale articoli con parametri sopra i limiti di legge: 26; tasso di n.c.: 16,3%
- Origine degli articoli n.c.: 42,3% Cina, 23,1% sconosciuta, 11,5% Bangladesh e il restante 23,1% da Portogallo, Pakistan, Macedonia del Nord, Birmania, Paesi Bassi e India.

Conclusioni e disseminazione

Il lavoro svolto è servito a delineare lo stato dell'arte dei controlli effettuati sugli articoli tessili nei diversi Paesi europei e a condividere le migliori pratiche di campionamento e di analisi, identificando approcci efficienti per evitare il più possibile che articoli tessili non conformi vengano immessi sul mercato europeo. Il rapporto suggerisce che, sebbene la maggior parte dei Paesi disponga di un solido sistema di monitoraggio e di applicazione della legislazione, l'efficacia dei controlli risulta limitata da diversi fattori.

I risultati delle due campagne acquisti hanno evidenziato un'elevata numerosità (16,3%) di campioni con almeno una sostanza vietata, di provenienza quasi esclusivamente extra europea, confermando le preoccupazioni già emerse in altri studi e la necessità di implementare i controlli, da oggi resi più efficaci grazie agli strumenti di valutazione del rischio elaborati con il progetto R4T.

Al fine di ottenere un'ampia disseminazione dei risultati ottenuti sono stati sviluppati due sintetici opuscoli a disposizione delle autorità competenti e di tutti gli stakeholder, riguardanti la 'Struttura e le competenze per la vigilanza del mercato tessile europeo' [9] e il 'Piano di campionamento basato sul rischio' [10].

BIBLIOGRAFIA

- [1] <https://www.consilium.europa.eu/it/infographics/eu-chemicals-strategy/>
- [2] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=CELEX:52022DC0141&from=EN>.
- [3] <https://euratex.eu/reach4textiles/>
- [4] **Transition pathway for the textiles ecosystem** European Commission, Directorate-General for Internal Market, Industry, Entrepreneurship and SMEs. Publications Office of the European Union, 2023, pp. 13.
- [5] https://single-market-economy.ec.europa.eu/single-market/goods/building-blocks/market-surveillance/organisation/adcos_en?prefLang=it
- [6] https://publications.europa.eu/resource/cellar/85f446fd-05a5-47d7-b0d3-96418710a1e0.0014.02/DOC_1
- [7] **Eionet Report - ETC/WMGE 2019/7, Textiles and the environment in a circular economy (2019)**
- [8] [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1907R\(01\)&from=IT](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1907R(01)&from=IT)
- [9] https://www.tessileesalute.it/repo/allegati_pagine/reach4textiles-sorveglianza_del_mercato-ITA_daf9ab1649_31.pdf
- [10] https://www.tessileesalute.it/repo/allegati_pagine/reach4textiles-piano_di_campionamento_basato_sul_rischioITA_6867175a58_31.pdf

REACH4TEXTILES Project and Surveillance of European Textile Market

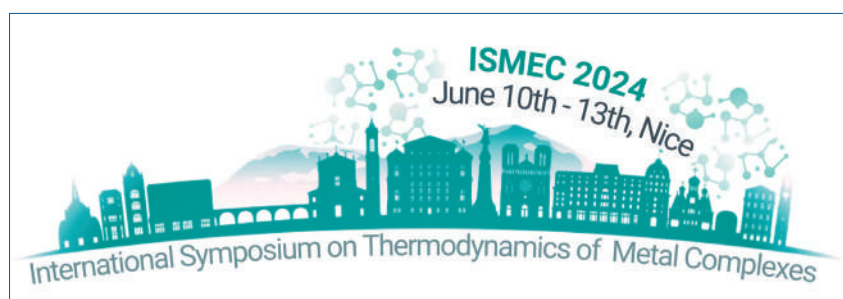
The European project REACH4TEXTILES (R4T) has been useful to outline the state of the art of eco-toxicological controls carried out on textile articles present in the European market and to share best practices in sampling and analysis. Innovative tools have been developed which can be used by stakeholders and by the control authorities for more efficient market surveillance.



Maria Rosa Beccia
Institut de Chimie de Nice
Université Côte d'Azur

ISMEC 2024 AND THE 17TH EDITION OF THE FERNANDO PULIDORI PRIZE

The International Symposium on Thermodynamics of Metal Complexes 2024, ISMEC 2024 took place in Nice from June 10th to 13th, organized by the Human and Environmental Radiochemistry team of Université Côte d'Azur. The event featured plenary and keynote speakers, oral and poster presentations, with 102 delegates from 13 countries. Dr. Lisa Rita Magnaghi (University of Pavia, Italy) received the Fernando Pulidori Award.



Spain, Germany, Hungary, Israel, Mexico, Poland, Portugal, Slovakia, Switzerland and the Czech Republic. The symposium focused on sharing cutting-edge research in the field of metal-complex chemistry, particularly concerning the thermodynamics and kinetics of metal complexes, supramolecular chemistry, bioinorganic chemistry and their applications in biomedical, environmental and industrial contexts.

The International Symposium on Thermodynamics of Metal Complexes (ISMEC) is the annual congress of the International Group for the Thermodynamics of Metal Complexes (<https://www.ismecgroup.org/>), a well-established, open forum for researchers to share knowledge, exchange ideas in the field and foster new collaborations. It has a rich history dating back to 1973, when it was first launched in Parma (Italy), as the meeting of the Italian “Gruppo di Termodinamica dei Complessi”. Over time, the symposium has evolved into a broader international gathering, reflecting the growing importance of coordination chemistry and metal-complex studies on a global scale.

This year, ISMEC 2024 was held in Nice, France, from 10th to 13th June 2024, organized by the Human and Environmental Radiochemistry team of the Institut de Chimie de Nice at Université Côte d'Azur. This event attracted a significant number of participants, gathering 102 delegates from 13 different countries. These included France, Italy,

organic chemistry and their applications in biomedical, environmental and industrial contexts. The scientific program at ISMEC 2024 covered a diverse range of topics, with the main areas of focus including:

- Complexation thermodynamics and kinetics
- Solution equilibria and coordination chemistry
- Complexation processes in supramolecular chemistry
- Metal-based reactivity and catalysis
- Metal-complex interactions with biomolecules
- Metals in diseases: transport, homeostasis, and toxicity
- Metal-based drugs: diagnosis and therapy
- Metal complexes of environmental and biological interest
- Nanostructured metal complexes
- Analytical methods and sensors based on complexation equilibria
- Computer methods for equilibrium analysis.

As with past editions of ISMEC, the event provid-



The award ceremony of Pulidori Prize. From the left: Maria Rosa Beccia, Maurizio Remelli, Michel Meyer, Lisa Rita Magnaghi and Demetrio Milea

ed an invaluable platform for scientists from various fields to present their latest research and engage in lively discussions. Four plenary speakers addressed a variety of key themes critical to the field of metal-complex chemistry. Stephen Butler (Loughborough University, UK) delivered a talk on anion binding and sensing with luminescent lanthanide probes, shedding light on innovative sensing techniques. Montserrat Filella (University of Geneva, Switzerland) presented the complexities of germanium chemistry in aqueous solutions, while Xavier Gaona (Karlsruhe Institute of Technology, Germany) explored the aquatic chemistry and thermodynamics of metallic radionuclides, crucial for environmental and repository science. Christelle Hureau from CNRS Toulouse, France, addressed the role of metal-peptide interactions in Alzheimer's disease and potential prevention strategies for mitigating their pathological effects. In addition to these plenary talks, the conference also featured five keynote lectures, including Maya Engel (The Hebrew University of Jerusalem, Israel) who discussed organic matter's modulation of heavy metal-soil mineral interactions and Philippe Guibaud (CEA, France), who focused on molecular dynamics of uranium(VI)

separation, contributing to the advancement of nuclear waste management and related applications. Other notable speakers were Eleonora Macedi (University of Urbino, Italy), who discussed the use of polyazaligands as tools for sensing, Trinidad Arcos Lopez (CINVESTAV, Mexico), presenting the redox reactivity of non-classical copper-protein complexes and Jalila Simaan (CNRS Marseille, France), who discussed the activity of bioinspired catalysts derived from copper-containing

enzymes. Besides this, ISMEC 2024 included 32 oral communications and 34 poster presentations, ensuring that a wide array of topics and insights were shared. As is usual at ISMEC meetings, the participation of young scientists was actively encouraged and many of the oral communications were delivered by PhD students and postdoctoral researchers. All abstracts from the oral and poster presentations were compiled and published in the *Acta of the International Symposia on the Thermodynamics of Metal Complexes*, Vol. 13, the "ISMEC



The Grand Château de Valrose where the conference took place



Group photo of participants to ISMEC 2024

Acta” (ISSN 2239-2459). This publication is available online via the ISMEC group website: <https://www.ismecgroup.org/ismec-acta/>.

The venue for the ISMEC 2024 conference was the Théâtre du Grand Château de Valrose, at the Université Côte d’Azur campus, located in the heart of Nice. Attendees were also treated to enriching social activities, including a guided tour of the renowned Chagall Museum and a gala dinner at the iconic Le Negresco Hotel. These events provided valuable opportunities for participants to network in an informal setting, fostering connections that will undoubtedly continue beyond the conference. During ISMEC 2024, the International Group for the Thermodynamics of Complexes conferred the Fernando Pulidori Award 2024 to Dr. Lisa Rita Magnaghi, from the University of Pavia (Italy), in recognition of her expertise in thermodynamics and kinetics of metal complexes and for the excellence of her scientific work, published in the article “Exploiting Principal Component Analysis (PCA) to reveal temperature, buffer and metal ions’ role in neuromelanin (NM) synthesis by dopamine (DA) oxidative polymerization” (*J. Inorg. Biochem.*, 2024, **256**, 112548). Lisa Rita Magnaghi was awarded an engraved plaque, a certificate, and a financial contribution, presented by the President of the Evaluation Committee, Prof. Maurizio Remelli. She also had the opportunity to present her research work during the conference, highlighting the importance of her findings in the field of coordination chemistry. An extended abstract of her scientific activity is published in this issue of “*La Chimica e l’Industria*”.

In addition to the Pulidori Award, four other prizes were conferred for outstanding oral and poster presentations delivered by young researchers. The oral communication prizes were awarded to Matteo Marafante (University of Torino, Italy) and Daniele Paderni (University of Urbino, Italy), while the poster prizes were given to Anna Baryilka (University of Białystok, Poland) and Pietro Gentilesca (University of Florence, Italy). Each of these awardees received a copy of the book *Emerging Analytical Techniques for Chemical Speciation Studies - Part 1*, which had been recently published by World Scientific Publishing Co. and was presented during the conference by Dr. Michel Meyer and Prof. Demetrio Milea. This book is closely related to the main topics of ISMEC, offering an in-depth look at various instrumental methods for investigating complex formation equilibria in solution and measuring associated thermodynamic parameters. Overall, ISMEC 2024 was an outstanding success. The high level of participation, the quality of the presentations and the diversity of topics discussed, all underscored the relevance and importance of this annual meeting in advancing the field of metal-complex chemistry. The next edition of ISMEC will be held in the beautiful city of Granada, Spain, in 2025.

A special issue of the *Journal of Inorganic Biochemistry* will be dedicated to ISMEC 2024, ensuring that the research presented at this year’s event reaches a wider audience and continues to inspire the field of metal-complex chemistry for years to come.

ISMEC 2024 e 17^a Edizione del Premio “Fernando Pulidori”

L’International Symposium on Thermodynamics of Metal Complexes 2024, ISMEC 2024, si è svolto a Nizza dall’10 al 13 giugno scorsi ed è stato organizzato dal gruppo di Human and Environmental Radiochemistry dell’Université Côte d’Azur di Nizza. L’evento ha visto la partecipazione di relatori plenari e keynote, presentazioni orali e poster, con 102 delegati da 13 Paesi. La dott. ssa Lisa Rita Magnaghi (Università di Pavia, Italia) ha ricevuto il premio Fernando Pulidori.



STUDYING NEUROMELANIN SYNTHESIS BY PCA

A deeper knowledge on neuromelanin synthesis from dopamine oxidation is mandatory to clarify the role of neuromelanin in neurological disorders pathogenesis. The present work focuses on defining the role of temperature, buffer and metal ions on both dopamine oxidation rate and oligomer size by monitoring the reaction by UV-Vis spectroscopy and applying Principal Component Analysis.

Neuromelanin in brain: good or naughty?

The name melanin indicates a large and very different class of polymeric pigments, present in almost all living species and characterized by their dark colour [1]; among the various melanin types, neuromelanin (NM) is the dark pigment observed in the brain, composed of covalently linked melanic, lipid, and peptide moieties, with coordinated iron and copper ions [2]. NM biosynthesis begins in the cytosol, upon accumulation of catecholamines [3] with DA being the main component but NM is also rich in iron and copper ions [2], organized in both multinuclear clusters and mononuclear centers: the metal composition is different in NMs from the various brain areas, with iron always the most abundant metal ion.

The main reason behind the increasing interest in the study of NM comes from its involvement in the pathogenesis of Parkinson's and Alzheimer's diseases: in fact, NM accumulates during aging in catecholaminergic neurons of the substantia nigra pars compacta (SN) and locus coeruleus (LC) but the loss of NM following neuronal degeneration and depigmentation of the brain regions mostly triggered by these diseases is a common phenomenon, at least in early events [4]. Going into more detail, NM plays two basic roles: on one hand, NM is associated with neuroinflammation as its release from dying neurons promotes the formation of reactive oxygen species causing neuroglia activation [5]; on the other hand, NM is also considered a protective component of the neurons since it acts as a scavenger of redox-active metal ions and neurotoxic species [5].

How can we study neuromelanin's related processes?

The study of NM activities is complicated by its large heterogeneity, insolubility and very low availability [2]. Thus it is of paramount importance to set up a reliable preparation procedure to get synthetic neuromelanin as a model compound for studying the properties of the natural pigment. To develop protocols that allow the preparation of synthetic NM, it is necessary to evaluate the effects of all the parameters involved in the process on both DA polymerization rates and the resulting molecular structures. Typically, activity studies are performed by changing one variable at the time, holding all the others at a fixed value, and observing how this single change affects the results but, having clear in mind that all the parameters are interconnected in the synthesis of NM models, it glaringly appears that a similar approach should not be applied to the characterization of complex systems. Furthermore, these investigations are usually conducted in conditions far from those in vivo and require laborious and complex result interpretation.

In the present work, we attempted to overcome the previously listed disadvantages by following a chemometric approach to rationalizing the effect exerted by the parameters involved in DA oxidation and consequent NM synthesis, mainly focusing on the temperature, buffering agent, Fe^{II} and Cu^{II} concentrations. Specifically, the activating, inhibitor or non-influencing effect of the listed parameters was observed by allowing the simultaneous modification of multiple parameters, following the changes in the entire UV-

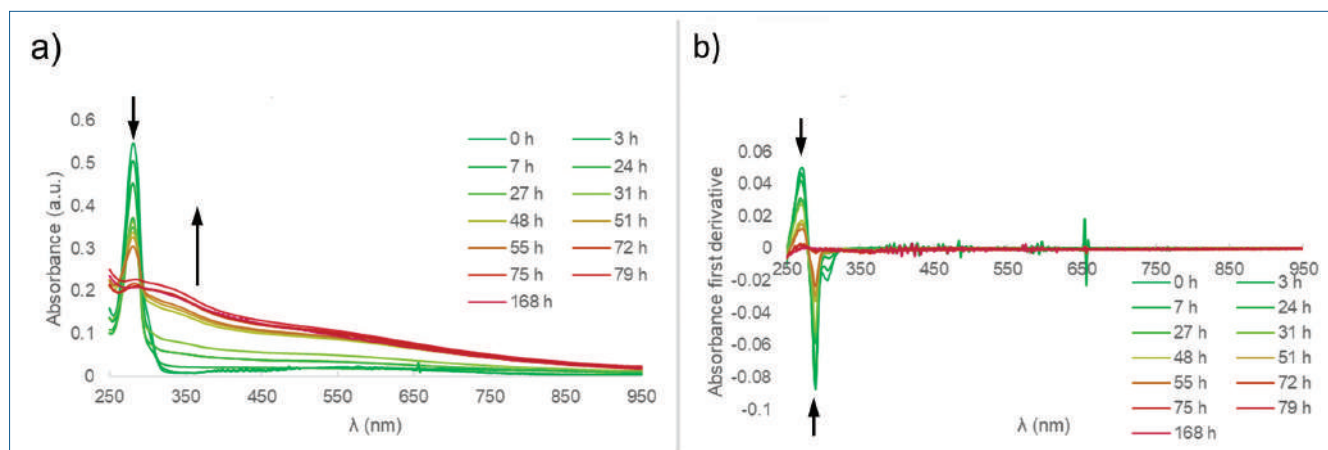


Fig. 1 - UV-Vis spectra (a) and spectra first derivative (b) acquired at different times during DA oxidation kinetic experiments at 25 °C in 50 mM MOPS buffer ($I \approx 20$ mM) at pH 7.0 for the samples containing both Cu^{II} and Fe^{II}

Vis spectra of the reaction mixture by means of the Principal Component Analysis (PCA) [6] applied both on the raw spectra and their first derivative to jointly monitor NM formation and DA consumption.

Chemometric-assisted approach to NM synthesis investigation

The chemometric-assisted approach here applied allowed to extract valuable information from apparently noisy and disturbed signals acquired during DA oxidation; to better clarify this aspect, in Fig. 1a an example of the UV-Vis spectra acquired during DA oxidation kinetics in the presence of both Cu^{II} and Fe^{II} is reported. The progress of the oxidation results in two main phenomena: (i) the decrease of the DA absorption band ($\lambda_{\text{max}}=280$ nm) with time together with (ii) an increase of the spectra baseline, resulting in the characteristic decreasing monotonic curve, caused by the scattering of light by DA oligomers [7]. In addition, a shoulder slightly above 300 nm is present, probably related to the fraction of DA coordinated to the metal ions [8]. It is worth noting that, by taking all these spectral features together, extracting valuable information from such experimental data is hard, especially relying on classical univariate data treatment. To avoid extensive data manipulation, ranging from subtracting the background absorption to applying some kind of operator-biased baseline correction or other techniques that may lead to data misinterpretation, we opted for a multivariate approach relying on PCA [6]. This technique allows considering the entire UV-Vis spectra to characterize the system and extract the information contained in the raw data from the background noise. In particular, from multivariate analysis on UV-Vis spectra, we extracted information on background absorption, thus on the formation of small oligomers of DA, which

were not separated from the solution by centrifugation. On the other hand, from the analysis of UV-Vis spectra first derivative (d1), reported in Fig. 1b for the reference dataset, we could investigate DA consumption from the decrease in the DA absorption band ($\lambda=280$ nm). UV-Vis spectra or d1 for each set of samples are firstly submitted to PCA to reduce the dimensionality; then, if the first principal component PC1 accounts for a sufficiently high percentage of explained variance and can be associated with the physical or chemical phenomena of interest, the score value on PC1 for each original spectra at a given time is plotted vs. time to obtain the trend we defined “Multivariate Kinetic Curves” (MKCs); this final output summarizes the ongoing process and allows to visualize the kinetics of NM formation and DA consumption. For the sake of brevity, here only the first case will be presented while further details are available at [9].

Case study 1: DA oxidation in MOPS buffer at 25 °C

The first screening experiment was performed in 50 mM MOPS buffer ($I \approx 20$ mM) at pH 7.0, monitoring six different samples, containing only DA or DA+ Fe^{II} , DA+ Fe^{III} , DA+ Cu^{II} , DA+ $\text{Fe}^{\text{III}}+\text{Cu}^{\text{II}}$, for 8 days, acquiring three spectra per day. Consequently, the UV-Vis spectra first derivative is calculated per each spectrum acquired and both the UV-Vis spectra and spectra first derivative (d1) were exploited to build MKCs. Fig. 2 shows the MKCs obtained plotting the average score value on PC1 vs. time for both spectra (Fig. 2a) and d1 (Fig. 2b): starting from the spectra analysis, the loadings plot (here omitted but reported in [9]) suggested that the score value on PC1 increases when background absorption increases, thus when the DA oligomers are characterized by small dimensions and cannot be removed by centrifugation.

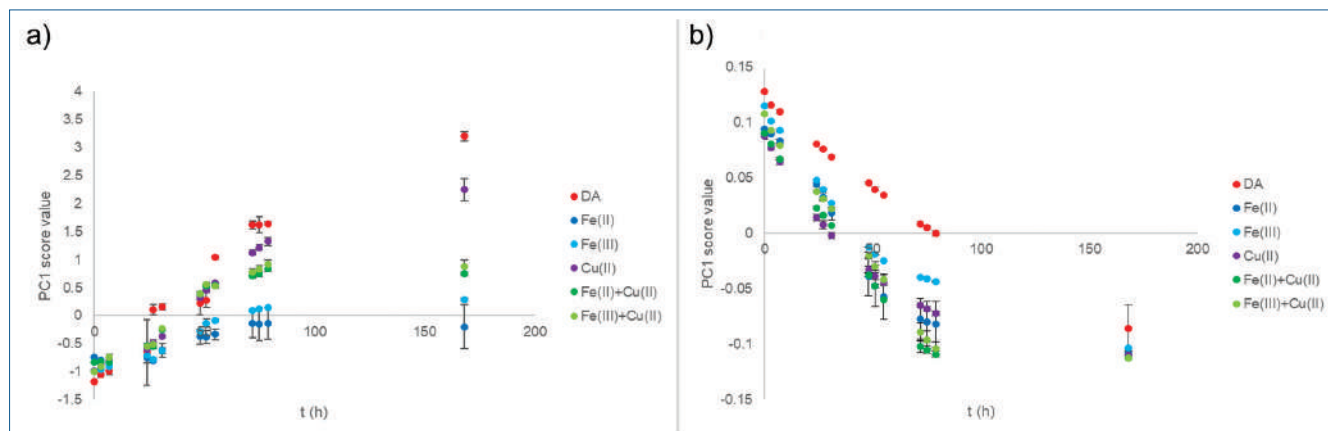


Fig. 2 - MKCs for DA oxidation in MOPS buffer at 25 °C, obtained plotting the average score value on PC1, calculated for the three replicates, vs. time for spectra (a) and spectra first derivative d1 (b) for DA-only (red), Fe(II) (blue), Fe(III) (light blue), Cu(II) (violet), Fe(II) + Cu(II) (green) and Fe(III) + Cu(II) (light green)

Having this in mind, Fig. 2a suggests that all the samples started from a similar background absorption which underwent a steady increase in the first five days, up to 79 h, while the increase between 79 and 168 h (Day 8) is negligible. Secondly, DA autoxidation, in the absence of metal ions, led to the formation of the smallest DA oligomers, thus resulting in the highest background absorption while Fe^{III}-containing samples are the ones with biggest DA oligomers, almost completely removed by centrifugation. Last but not least, when both Cu^{II} and Fe^{III} were added, no cooperation was observed between the two metal ions but the samples showed a behaviour in between the ones containing either copper or iron.

Moving to the analysis of spectra first derivatives, the loadings plot clearly highlighted that PC1 score value decreases together with DA consumption thus the MKCs (Fig. 2b) suggests that DA oxidation mainly occurred within the first five days. As for the effect of sample composition, (i) DA oxidation is slower when no metal ions were added; (ii) iron-containing samples, especially in the case of Fe^{II}, presented a sort of linear behaviour within the first five days; (iii) Cu^{II}-containing samples showed the highest oxidation rate in the first two days and then the reaction slowed down; (iv) mixed samples again present an intermediate behaviour. We could conclude that the difference in copper-containing and iron-containing samples relies on the balance between nucleation and growth of DA oligomers: in the case of Cu^{II}, the higher initial DA oxidation rate strongly encouraged nucleation, which resulted in the formation of a higher number of seeds that, on one hand, could not reach large dimensions and remained in solution after centrifugation, and on the other hand, might sequester the metal ion, reducing its catalytic activity towards DA oxidation. In the case of iron, the

slower initial kinetics led to the formation of fewer seeds exhibiting constant growth during time, not affecting iron catalytic activity. This explanation was consistent with the results obtained for both copper and iron-containing samples in which we could assume that no cooperation occurred between the two metal ions.

REFERENCES

- [1] L. D'Alba *et al.*, *Physiol. Rev.*, 2018, **99**, 1.
- [2] L. Zecca *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2004, **101**, 9843.
- [3] D. Sulzer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000, **97**, 11869.
- [4] F.A. Zucca *et al.*, *IUBMB Life*, 2023, **75**, 55.
- [5] E. Ferrarri *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.*, 2017, **8**, 501.
- [6] P. Oliveri *et al.*, *Adv. Food Nutr. Res.*, 2010, **61**, 57.
- [7] A.R. Young, *Phys. Med. Biol.*, 1997, **42**, 789.
- [8] W.J. Barreto *et al.*, *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 2005, **136**, 701.
- [9] F. Schifano *et al.*, *J. Inorg. Biochem.* 2024, **256**, 112548.

Come studiare la sintesi di neuromelanina tramite PCA

Una miglior conoscenza della sintesi della neuromelanina dall'ossidazione di dopamina è fondamentale per chiarire il ruolo della neuromelanina nella patogenesi di disturbi neurodegenerativi. Questo lavoro punta a definire il ruolo di temperatura, agente tamponante e cationi metallici sulla velocità di ossidazione e sulla dimensione degli oligomeri di dopamina grazie al monitoraggio della reazione con spettroscopia UV-Vis e all'applicazione dell'analisi delle componenti principali.



Luigi Campanella^a, Valerio Sanguigni^b

^aDipartimento Chimica Sapienza Università e GdL Etica Società Chimica Italiana

^bDipartimento di Medicina dei Sistemi, Università di Roma Tor Vergata

L'INTELLIGENZA ARTIFICIALE NELLE SCIENZE MEDICHE

Uno degli aspetti più affascinanti dell'Intelligenza Artificiale è correlato alla sua possibilità di intervenire in campo medico. Tra i suoi usi più richiesti c'è l'elaborazione delle immagini in campo medico e le applicazioni nella farmaceutica mediante la quali/quantificazione della "somiglianza ai farmaci". È probabile che nel prossimo futuro le applicazioni di intelligenza artificiale saranno rapidamente integrate nelle attività sanitarie di routine.



Con il termine Intelligenza Artificiale (IA), ci riferiamo a sistemi in grado di realizzare compiti e funzioni che normalmente sono propri dell'intelligenza umana. Esistono varie definizioni di IA. Quella recentemente adottata dalla Comunità Europea è la seguente: "L'intelligenza artificiale è l'abilità di una macchina di mostrare capacità umane quali il ragionamento, l'apprendimento, la pianificazione e la creatività. I sistemi di IA sono capaci di adattare il proprio comportamento analizzando gli effetti delle azioni precedenti e lavorando in autonomia".

Nel 1950 Alan Turing, un eminente matematico britannico, fa riferimento per la prima volta alla possibile creazione di una macchina pensante. Nel 1956, al Dartmouth College, nel New Hampshire, in un convegno organizzato per studiare dei macchinari in grado di emulare il cervello umano, uno degli organizzatori del congresso, John McCarthy, coniò il termine *Intelligenza Artificiale*. Oggi molte piattaforme sul web (Amazon, Netflix e Spotify e

nei Social (Facebook, Twitter, Instagram) utilizzano sofisticati sistemi di IA, così come gli assistenti virtuali degli smartphone, per esempio Siri o Google Assistant, sono basati sull'intelligenza artificiale. In effetti questo stretto coinvolgimento è legato ad un processo storicamente più antico, quello dell'automazione come alternativa al lavoro umano con le conseguenze etiche ed economiche che ne derivano. L'intelligenza artificiale è però qualcosa di più: non si tratta solo di gestire macchine obbligandole ad imparare i nostri insegnamenti, ma anche di programmare, attuare, scegliere.

Lo sviluppo dell'IA pone come primo quesito: quali sarebbero gli effetti sul piano dell'organizzazione e del mercato del lavoro, in termini di sua capacità a sostituire l'uomo nel comandare e programmare la macchina, nell'analisi critica dei *big data*, nella vigilanza sulle varie componenti della nostra vita? Da qui deriva il secondo quesito: da tale supporto all'essere umano deriva un vantaggio o, al contra-



rio, un freno all'iniziativa ed una disincentivazione all'elaborazione intellettuale dei problemi che la vita ci pone davanti? Poiché poi tale elaborazione presiede alle scelte e queste nel loro complesso rappresentano il comportamento, la cui scienza è l'etica, l'intelligenza artificiale può incidere, quindi, anche sulla nostra etica.

Molti studi sono stati svolti intorno a questi importanti interrogativi e le conclusioni generalmente sono positive da punti di osservazione diversi. Dall'IA possono scaturire opportunità per il mercato del lavoro, capaci di bilanciare le presumibili iniziali perdite di posti. Di conseguenza anche l'atteggiamento del mercato del lavoro e degli stessi lavoratori non sarà negativo rispetto al nuovo strumento. La fiducia nella IA è esaltata anche da alcuni dati ed eventi di questi ultimi tempi: protegge la biodiversità, contrasta i pericoli da incendi boschivi, funge da sentinella per la salute dell'ambiente, ottimizza l'uso delle risorse energetiche ed idriche e può, così, addirittura contrastare l'effetto serra.

Tuttavia uno degli aspetti più affascinanti dell'IA è di certo correlato alla sua possibilità di intervenire sull'invecchiamento della popolazione mediante le sue applicazioni in campo medico, perseguendo l'obiettivo di non aggiungere solo anni alla vita ma anche vita agli anni. È questo il motivo principale per cui l'interesse per le applicazioni di intelligenza artificiale nella medicina è cresciuto in maniera esponenziale negli ultimi anni nella maggior parte delle grandi strutture ospedaliere internazionali.

Attualmente, uno degli usi più richiesti dell'intelligenza artificiale in medicina è l'elaborazione di predizioni, in particolare nell'interpretazione delle immagini in campo diagnostico. È il caso della "Radiomica" ovvero dell'applicazione dell'intelligenza artificiale alla lettura profonda delle immagini provenienti da RX, TAC, RMN ed esami ecografici. La Radiomica permette di estrarre informazioni quantitative dalle immagini radiologiche in modo automatizzato e riproducibile. Più nel dettaglio, si parla di "feature radiomiche", ovvero di composizione e caratteristiche tipiche di un'immagine medica, che viene letta per variazioni di toni di grigio: si può quindi allenare l'intelligenza artificiale a leggere queste texture e associarle a uno o l'altro esito. A livello scientifico si pensa addirittura di utilizzare la radiomica per prevedere chi si ammalerà di cancro sulla base di spe-

cifiche variazioni nella composizione delle immagini mediche. In due studi pubblicati [1, 2], uno sull'analisi dei noduli polmonari di 246 pazienti e l'altro su 2652 esami per valutare l'incidenza di neoplasie al seno, l'IA aveva un'accuratezza non inferiore alla diagnosi clinica dei radiologi. Altri studi [3-8] hanno valutato il ruolo dell'IA nell'interpretazione di immagini ecografiche di neoplasie della tiroide, del seno e dell'apparato urogenitale maschile e femminile con notevole efficacia e accuratezza. In una sperimentazione [9] le immagini eco-colordoppler della carotide sono state integrate con i fattori di rischio tradizionali per addestrare un modello di intelligenza artificiale in grado di predire il rischio cardiovascolare a 10 anni con un'accuratezza superiore al 90%. Anche nel campo delle immagini delle patologie cutanee di tipo dermatologico l'intelligenza artificiale ha dimostrato notevoli capacità diagnostiche/predittive. Nel 2017 su *Nature* [10] è stato pubblicato un articolo che utilizza un *dataset* di circa 130.000 immagini per classificare le immagini dermatologiche. La *performance* dell'IA nel classificare il melanoma è stata confrontata con un *board* di 21 dermatologi e la capacità di riconoscere il melanoma da parte dell'intelligenza artificiale è risultata efficace come quella dei dermatologi.

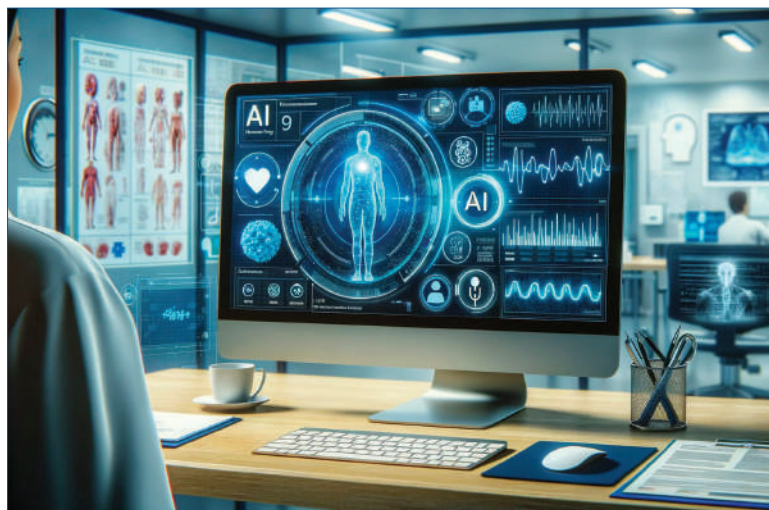
Un altro campo promettente e interessante di applicazione dell'intelligenza artificiale in medicina è sicuramente quello della farmaceutica. Sono stati già compiuti significativi passi avanti nel conoscere il destino dei farmaci nel nostro organismo, conoscenza resa possibile dai punti di quantificazione, da semiconduttori, nel simulare bioreazioni attraverso esperimenti *in silico*, nell'individuazione di proteine, acidi nucleici, glicani quali marker preventivi e sentinelle laser di malattie anche gravi. L'IA può essere utilizzata nella valutazione del disegno e dei risultati degli studi clinici per la scoperta di nuovi farmaci. Infatti, negli ultimi anni, il fallimento della maggior parte dei *trials* clinici realizzati sull'efficacia di nuove molecole ha contribuito molto alla rinuncia di una grande parte della ricerca scientifica sullo sviluppo di nuovi farmaci. Il motivo è soprattutto economico perché un trial clinico richiede almeno 5-10 anni per essere realizzato con costi economici tra gli 1,5 ai 2,5 miliardi di dollari. Di conseguenza, un suo eventuale risultato negativo ha implicazioni enormi dal punto di vista economico per un'azienda



farmaceutica. Per esempio alcuni grandi industrie farmaceutiche hanno deciso di non investire più nel campo della ricerca cardiovascolare. L'impiego della IA nella progettazione del disegno clinico nello studio e nella predizione dei risultati può essere determinante per ridurre i costi e migliorare le possibilità di successo. D'altra parte una delle prime applicazioni dell'IA nel contesto della scoperta precoce di farmaci è stata la quantificazione della "somiglianza ai farmaci" (*druglikeness*), che tenta di imitare l'intuizione dei chimici farmaceutici nello stimare la probabilità che nuove strutture chimiche abbiano di diventare "farmaci". Il processo di stima della somiglianza con i farmaci utilizzando l'intelligenza artificiale rimane uno strumento pratico di navigazione nello spazio chimico, poiché il numero di possibili sostanze chimiche simili ai farmaci può superare i cento trilioni.

Un altro settore che può fruire positivamente del rapporto tra IA e medicina è quello della gestione dei ricoveri dei pazienti in ambiente ospedaliero. Alcune grandi istituzioni ospedaliere stanno già utilizzando l'intelligenza artificiale per costruire modelli di previsione, analisi e gestione del tempo di degenza ospedaliera dei pazienti. Ciò consente di realizzare con successo la previsione dei tempi di attesa accurati nel pronto soccorso degli ospedali, riducendo il tempo medio di degenza, ottimizzando risorse e protocolli d'intervento, migliorando l'efficienza medica, l'esperienza soggettiva dei pazienti e promuovendo la redistribuzione delle risorse mediche. Esistono poi, naturalmente, anche delle criticità, quando si parla di intelligenza artificiale in campo medico.

La prima riguarda raccolta ed elaborazione dei dati clinici. Questo aspetto, nell'approccio medico tradizionale, è chiamato anamnesi, cioè il confronto fondamentale tra medico e paziente nella raccolta dei sintomi e della storia clinica del paziente. Tale confronto spesso è filtrato dall'esperienza e dalla capacità del medico nell'interpretazione dei dati clinici forniti dal paziente, che è poi fondamentale per la diagnosi della patologia e per il corretto approccio terapeutico. D'altro canto, la disponibilità di dati è naturalmente essenziale per la realizzazione di qualunque strumento di intelligenza artificiale. Tali dati nel campo della IA devono avere un volume importante (big data) ma soprattutto una sicura attendibilità. Da questo punto di vista, la necessità di combinare dati che provengono da sorgenti diverse pone numerosi problemi. Per esempio i dati che riguardano i pazienti con una determinata patologia raccolti in un ospedale negli USA e in un ospedale italiano saranno condizionati dalle procedure vigenti e dagli strumenti utilizzati per raccogliere i dati stessi. È fondamentale quindi elaborare uno strumento comune in campo medico, in grado combinare dati elaborati da centri ospedalieri diversi, per garantire lo sviluppo di algoritmi accurati che possano essere utilizzati nella pratica clinica. Ultimo aspetto che pone importanti interrogativi nell'applicazione in campo medico dell'intelligenza artificiale è sicuramente quello medico legale, a tutela sia dei fondamentali diritti del paziente ma anche della professione medica. Nel caso in cui le conclusioni diagnostiche e gli indirizzi terapeutici dell'IA divergano da quelle del medico, si pone un problema, non facilmente risolvibile, sia nel rapporto con il paziente sia nel campo della re-



sponsabilità medico/legale. Infatti, se in futuro l'intelligenza artificiale, soprattutto come abbiamo visto in campo diagnostico, guiderà le decisioni cliniche, esiste comunque la concreta possibilità, come avviene in altri campi, che commetta errori. Di chi è la responsabilità da un punto di vista giuridico? Questo è uno degli aspetti più controversi da ridefinire.

In conclusione si può affermare che l'applicazione dell'IA alle molteplici attività umane, così come alla medicina, è un'espressione ineluttabile del progresso, che, come diceva Plinio il Vecchio, non è sempre facile da accettare, perché, come distanziamento dalla natura, per definizione è soggetto all'errore e quindi obbliga a scelte responsabili, ben consci dei limiti dell'innovazione che, nel caso della medicina, coinvolgono il male rappresentato dalla malattia. Non è possibile quindi creare un dualismo fra IA ed intelligenza umana in medicina. Al contrario bisogna creare un'empatia da cui trarre il massimo vantaggio per migliorare la qualità della cura del paziente.

Quanto detto per la medicina vale per le altre discipline scientifiche. Se si vuole investigare qual è l'impatto dell'IA sulla scienza e sulla ricerca condotta nei laboratori scientifici si finisce per arrivare alle stesse conclusioni, quasi a dimostrare che non vi è specificità nel rapporto fra IA e attività umane. Il ricercatore è un soggetto espressione della società civile che però, per molti aspetti, ha con la macchina gli stessi rapporti, conflittuali e collaborativi insieme, che riguardano le altre attività della vita civile e sociale specialmente di quella scientifica. Tentare di assegnare al lavoro scientifico caratteri di eccezionalità non favorisce l'integrazione della ricerca nel contesto delle attività attraverso le quali, educazione,

associazionismo, lavoro, la nostra società cresce e si sviluppa. È altamente verosimile che, nel prossimo futuro, le applicazioni di intelligenza artificiale saranno rapidamente integrate nelle attività sanitarie di routine e il potenziale impatto può essere dirompente. Per tale motivo è essenziale che i medici e tutto il personale sanitario ne conoscano i possibili meccanismi, i vantaggi ma anche i limiti. Sarà fondamentale per i medici conoscere bene come utilizzare al meglio l'IA per realizzare nella maniera migliore una integrazione empatica tra la medicina tradizionale e l'intelligenza artificiale e migliorare la qualità della cura del paziente.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. Gong, J.Y. Liu *et al.*, *Phys. Med. Biol.*, 2018, **63**(3), 35036.
- [2] R.A. Rodriguez, K. Lang *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.*, 2019, **111**(9), 916.
- [3] D.T. Nguyen, J.K. Kang *et al.*, *Sensors (Basel)*, 2020, **20**(7), 1822.
- [4] C. Sun, Y. Zhang *et al.*, *Med. Phys.*, 2020, **47**(9), 3952.
- [5] J. Chen, H. You *et al.*, *Comput. Methods Programs Biomed.*, 2020, **185**, 105329.
- [6] T. Fujioka, M. Mori *et al.*, *Diagnostics (Basel)*, 2019, **9**(4), 176.
- [7] C.H. Chen, Y.W. Lee *et al.*, *Comput. Methods Programs Biomed.*, 2019, **177**, 175.
- [8] F. Noort, C.H. Vaart *et al.*, *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2019, **54**(2), 270.
- [9] A. Esteva, B. Kuprel *et al.*, *Nature*, 2017, **542**, 115.
- [10] A. Jamthikar, D. Gupta *et al.*, *Cardiovasc. Diagn. Ther.*, 2020, **10**(4), 919.

Artificial Intelligence in Medical Sciences

One of the most fascinating aspects of Artificial Intelligence is related to its possibility of intervening in the medical sciences. Among its most requested uses is the processing of images in the diagnostic field and applications in pharmaceuticals through the quantification of the "druglikeness". It is likely that in the near future, artificial intelligence applications will be rapidly integrated into routine healthcare activities.



LIEBIG E KEKULÉ E IL GIALLO DELLA CONTESSA GÖRLITZ

Nel 1850 si tenne a Darmstadt un processo criminale interessante per le notevoli implicazioni chimiche. Si trattava dell'omicidio di una Contessa che, inizialmente, venne scambiato per un caso di autocombustione umana. Furono coinvolti Justus Liebig, come esperto, e il giovane, allora studente di architettura, August Kekulé, come testimone.

Nel 1850, quando August Kekulé aveva solo 21 anni, Darmstadt, la sua città natale (ma anche di Liebig) fu la scena di un processo criminale inizialmente molto complicato che vale la pena di raccontare per le numerose implicazioni chimiche [1-3]. Si trattava dell'omicidio della Contessa Görlitz che suscitò un enorme interesse non solo in Germania, sia per la posizione elevata della sfortunata signora e per il mistero che circondava la sua morte, sia perché l'accusa di averla uccisa era ricaduta inizialmente sul marito, il Conte Görlitz, ciambellano del Granduca d'Assia.

Il 13 giugno 1847 la Contessa era stata trovata morta nella sua stanza privata. La parte superiore del suo corpo, parzialmente bruciata, giaceva nei pressi della scrivania completamente carbonizzata. Dato che la contessa godeva di ottima salute e che la scena della tragedia, ad un esame molto superficiale e affrettato, non presentava segni di violenza fu ipotizzata dai tre medici consultati la combustione spontanea e il caso considerato chiuso, anche se erano rimaste diverse ombre sul conto del marito.

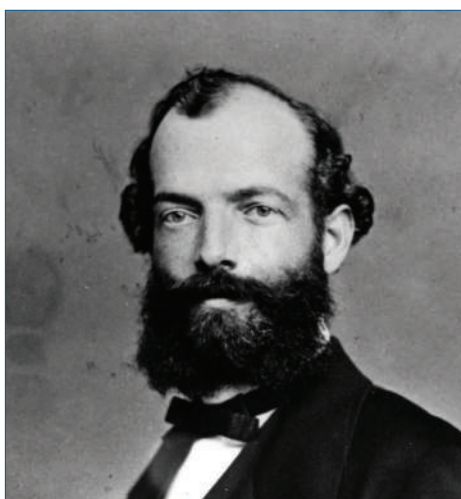
Stanco dei continui attacchi della stampa e dell'opinione pubblica il Conte riuscì ad avere un giusto processo durante il quale la Corte di Giustizia pose ai periti la seguente domanda: "Possiamo ammettere con certezza

l'esistenza di casi di morte per combustione spontanea?".

Justus Liebig, al culmine della sua fama, fu chiamato a testimoniare come esperto e preparò una dettagliata memoria [4, 5] in cui manifestò la completa inattendibilità della tesi dell'autocombustione del corpo umano. In precedenza, già in alcuni casi simili, era stata invocata l'autocombustione ma Liebig fece notare, tra le varie argomentazioni, che il corpo umano contiene più o meno il 75% di acqua e di conseguenza non può diventare più caldo della temperatura di ebollizione dell'acqua che è di diverse centinaia di gradi più bassa di quella necessaria per accendere anche i costituenti più infiammabili del corpo umano. Il calore prodotto dalla combustione delle parti anidre del corpo non è sufficiente per evaporare la grande massa di acqua ivi contenuta.

La tesi di Liebig fu ulteriormente supportata dalla testimonianza di K.G. Bischoff, professore di fisiologia all'Università di Giessen. Bischoff riprodusse dal vero la scena dell'incendio, addirittura con un cadavere seduto ad una scrivania a cui appiccò il fuoco. Dopo questo "trattamento" il corpo era nelle stesse condizioni in cui era stato trovato quello della Contessa.

Liebig e Bischoff giunsero pertanto alla conclusione, adottata infine anche dal resto dei periti



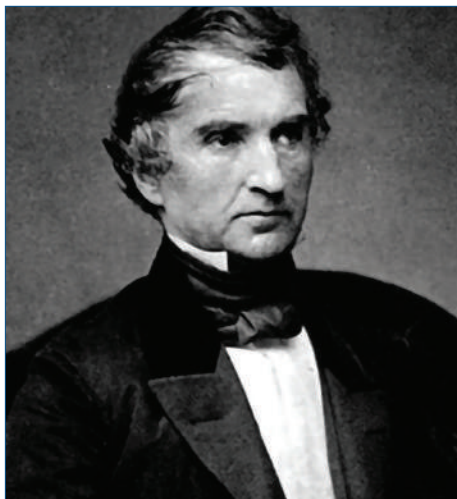
Friedrich August Kekulé von Stradonitz



(tutti medici), che la combustione spontanea non solo è improbabile, ma che la sua impossibilità materiale è un dato acquisito dalla scienza [4].

Nell'agosto 1848, cioè oltre un anno dopo la sepoltura della Contessa, il corpo fu riesumato e sottoposto a un vero esame. Vennero rivelati due fatti: il cranio della Contessa era stato fratturato da uno strumento contundente ed era stata strangolata.

Gli sforzi del Conte per scagionarsi avevano accertato il fatto che sua moglie era stata assas-



Justus von Liebig

sinata, ma non avevano del tutto stabilito la sua innocenza. L'indagine portò ancora più elementi: era stata derubata e assassinata per i suoi gioielli. Che fine avevano fatto i suoi braccialetti, le spille, gli anelli, le collane, gli orecchini? Tutti questi articoli erano spariti. Nessuna traccia di essi era stata trovata nelle ceneri sotto la scrivania; inoltre, i cassetti in cui li conservava non erano tra quelli bruciati.

Successivamente si verificò un altro episodio singolare: il maggiordomo dei Görnitz, John Stauff, fu sorpreso dalla loro cuoca mentre versava da un flacone un liquido nella salsa preparata per il padrone. L'analisi del medico di famiglia a cui si era rivolta, insospettita, la cuoca rivelò che alla salsa era stata aggiunta una quantità di verderame sufficiente ad avvelenare un uomo. Stauff evidentemente voleva che il Conte venisse trovato avvelenato, in modo che il pubblico potesse dedurre che si era suicidato per evitare l'arresto. Stauff fu arrestato il 3 novembre 1847, ma solo con l'accusa di aver tentato di avvelenare il Conte mentre l'accusa ulteriore di aver assassinato la Contessa non fu mossa contro di lui fino al 28 agosto 1848.

Le prove che successivamente inchiodarono Stauff sono consistite nel fatto che nell'ottobre 1847 fu arrestato suo padre mentre tentava di vendere alcuni dei gioielli della Contessa per cui il maggiordomo fu accusato di furto e di omicidio. Il 4 marzo 1850 iniziò il processo contro di lui per l'omicidio della Contessa, per furto, per incendio doloso e per il tentato avvelenamento del Conte. La giuria lo trovò unanimamente colpevole di tutti i capi di imputazio-

ne e lo condannò all'ergastolo. Da menzionare che Stauff, alla fine, confessò di aver sorpreso la Contessa da sola davanti al suo mobile, spinto dal desiderio di impadronirsi dei suoi gioielli, l'aveva strangolata e poi aveva cercato di bruciarne il cadavere in una stufa, riuscendoci solo parzialmente e quindi appiccando un incendio per dare al suo crimine l'apparenza di un incidente. Contrariamente a quanto succede nei libri gialli, questa volta il maggiordomo era veramente il colpevole dell'omicidio

e di conseguenza fu condannato.

A questo punto dobbiamo far entrare in scena Kekulé, la cui famiglia abitava proprio di fianco alla casa dei Görnitz. Guardando fuori dalla finestra, Kekulé e la sorella videro con stupore, la sera dell'omicidio, una luce tremolante come una fiamma lambente e lampeggiante nella stanza della Contessa, segno che c'era un incendio in atto. Kekulé fu chiamato a testimoniare chiaramente non come esperto (era ancora troppo giovane e, scientificamente, non era nessuno; oltretutto, all'epoca dell'omicidio, era studente di architettura) ma perché fu tra i primi ad accorrere e a vedere il cadavere.

Il giovane rese la sua testimonianza con grande chiarezza e sicurezza. In seguito passò da architettura a chimica, frequentando anche le lezioni di Liebig.

BIBLIOGRAFIA

- [1] R.E. Oesper, *The Human Side of Scientist*, University of Cincinnati, Cincinnati, 1975, p. 110.
- [2] S. Bairing Gould, *Historic Oddities and Strange Events*, Metuen, Londra, 1991, p. 199.
- [3] J.L. Heilbron, *Proceedings of the American Philosophical Society*, 1994, **138**(2), 284.
- [4] A. Tardieu, X. Rota, *Annales d'Hygiène Publique et de Médecine Legale*, 1850, **44**, 191, 363; 1851, **45**, 99.
- [5] J. Liebig, *Familiar Letters on Chemistry*, Taylor, Londra, 1851, p. 280.



a cura di Silvia Cauteruccio e Monica Civera

Dipartimento di Chimica

Università di Milano

silvia.cauteruccio@unimi.it

monica.civera@unimi.it

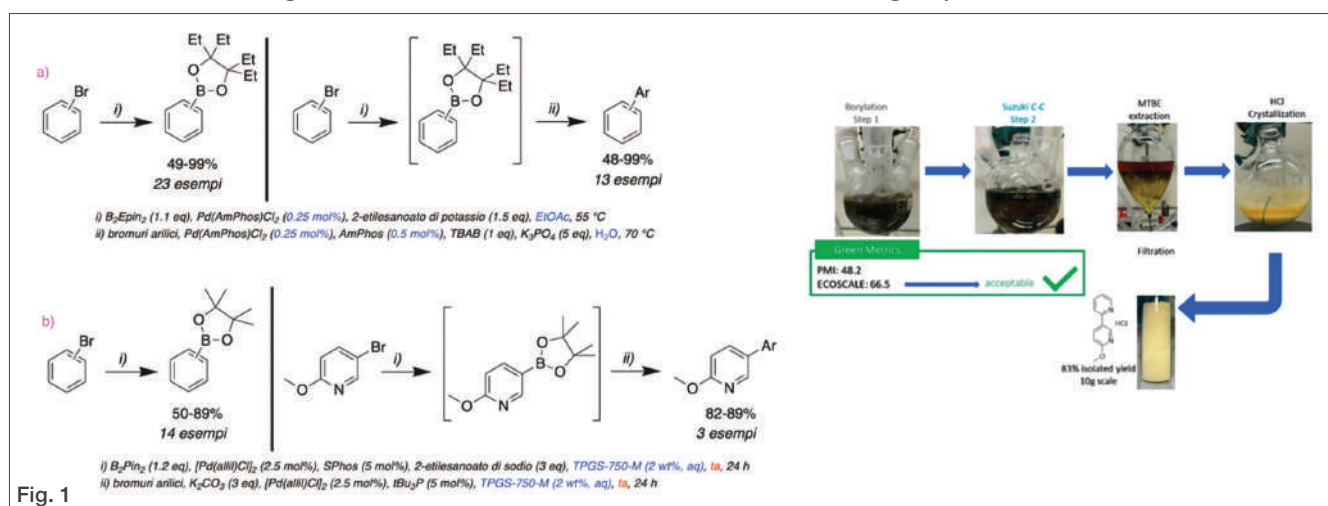
Reazioni di borilazione sostenibili e processi *one-pot*

Possiamo affermare che ci sono pochi processi chimici onnipresenti come la reazione di Suzuki-Miyaura (SM) nella moderna sintesi organica e la letteratura ce lo conferma, riportando costantemente nuove ricerche su questa trasformazione, che sembra non esaurirsi mai in termini di applicazioni e studi di ottimizzazione delle condizioni sperimentali.

Tale reazione è stata, infatti, indicata come la seconda trasformazione più utilizzata nell'industria farmaceutica per la sintesi di API (*Active Pharmaceutical Ingredients*) [D.G. Brown *et al.*, *J. Med. Chem.*, 2016, **59**, 4443], e trova altrettanta importanza anche per la formazione di sistemi biarilici in prodotti agrochimici e materiali semiconduttori organici. Le indiscutibili efficienza e versatilità di questa reazione di *cross coupling* per la formazione di legami Csp^2-Csp^2 si scontrano ancora però con la necessità di rendere tale trasformazione più sostenibile e vicina ai principi della *green chemistry*, nonostante passi avanti significativi sono stati fatti, ad esempio utilizzando solventi non tossici e rispettosi dell'ambiente, diminuendo drasticamente le quantità di catalizzatori a base di palladio e mettendo a punto sistemi catalitici a base di metalli meno preziosi e più disponibili (Fe, Co) o facilmente recuperabili e/o riciclabili. Uno degli ostacoli ancora presenti nel rendere la reazione SM un processo pienamente sostenibile è rappresentato dalla sintesi dei precursori boronici, acidi ed esteri, che si ottengono principalmente attraverso reazioni di borilazione di alogenuri arilici mediante reazio-

ni di scambio alogeno-metallo a bassa temperatura oppure mediante borilazione di Miyaura (BM) catalizzata da palladio ad elevate temperature. Più recentemente sono state studiate anche reazioni di borilazione attraverso attivazione di legami C-H in presenza di sistemi catalitici di iridio le cui quantità e costi non sembrano ad oggi proponibili su larga scala. Accanto alla necessità di rendere le sintesi di acidi ed esteri boronici più sostenibili, la possibilità di effettuare un processo di borilazione-reazione di Suzuki *one-pot* nel quale il derivato boronico non viene isolato ma fatto reagire *in situ* con il *partner* elettrofilo per ottenere direttamente il prodotto di *coupling* è un'alternativa altrettanto allettante.

Il gruppo di Lipshutz [B.H. Lipshutz *et al.*, *Green Chem.*, 2024, DOI: [10.1039/d4gc03115f](https://doi.org/10.1039/d4gc03115f)] propone una procedura per la sintesi di esteri boronici mediante una BM a partire da bromuri arilici, impiegando quantità di palladio <1% e acetato di etile come solvente a 55 °C (Fig. 1a). Tale reazione è stata utilizzata anche per il processo *one-pot* di borilazione-Suzuki ottenendo prodotti complessi inclusi diversi API. Con obiettivi simili, il gruppo di ricerca dell'azienda vicentina F.I.S. in collaborazione con l'Università Ca' Foscari di Venezia [A. Scarso *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2024, **89**, 12452], ha sviluppato un metodo di borilazione diretta di bromuri eteroarilici in acqua in presenza di tensioattivi a temperatura ambiente per ottenere i corrispondenti esteri pinacolici (Fig. 1b). Anche in questo caso, è stato messo a punto un processo *one-pot* che evita l'isolamento di tali esteri e che permette di ottenere direttamente i prodotti di *coupling* su scale fino a 10 g di prodotto finale isolato.



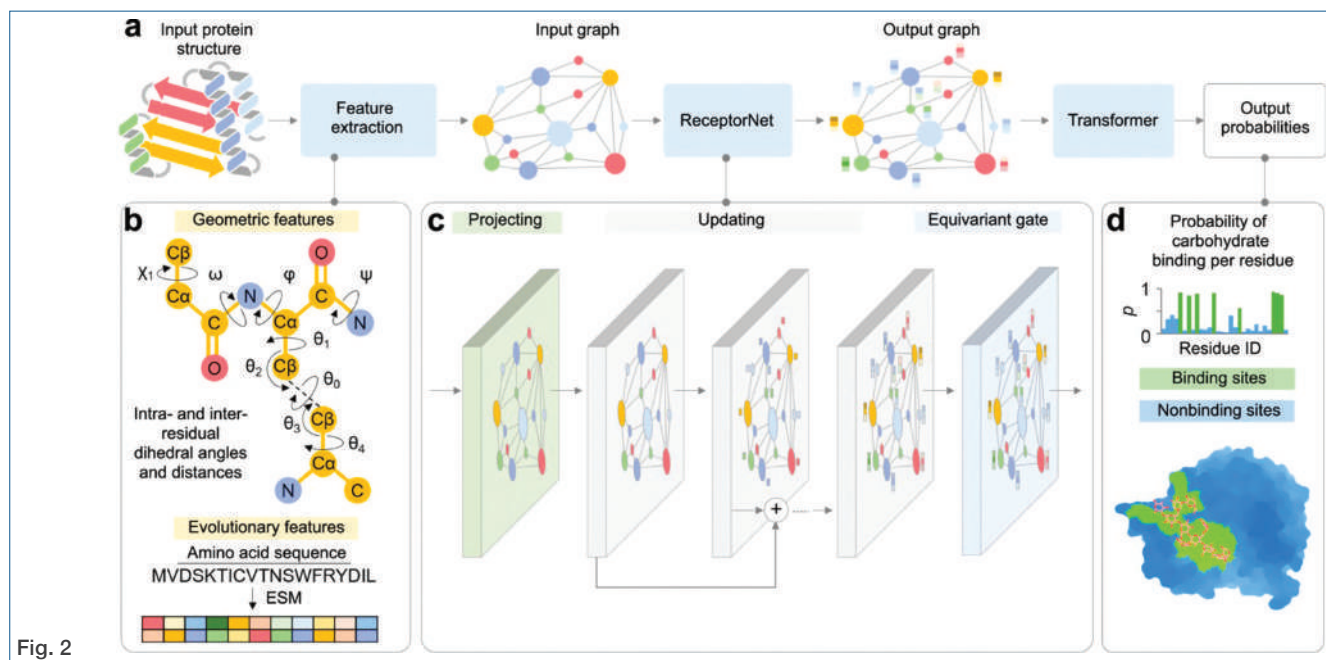


Fig. 2

DeepGlycanSite: un tool per identificare siti di legame per carboidrati

L'interazione tra carboidrati e proteine è alla base di molti processi fisiologici e patologici. Tuttavia, la scarsa comprensione di come i carboidrati si legano e agiscono sulle proteine ne ha limitato lo sviluppo come farmaci. La complessità strutturale delle lunghe catene oligosaccaridiche, altamente ramificate e con molteplici conformazioni, rende i siti di riconoscimento sulla superficie delle proteine molto vari sia per forma che per dimensione. Inoltre, a causa dell'affinità di legame relativamente bassa, i carboidrati possono legarsi a più siti (o domini) di una proteina.

Gli autori di questo lavoro [X. He *et al.*, *Nat. Commun.*, 2024 **15**, 5163] propongono un nuovo tool computazionale fondato sull'intelligenza artificiale (AI) per la previsione del sito di legame dei carboidrati. *DeepGlycanSite* si basa sulle caratteristiche geometriche (distanze e angoli diedri inter- e intra-residuo), oltre che su informazioni evolutive della proteina. A partire dalla struttura tridimensionale del target come input, il programma la converte in un grafo, dove ogni nodo contiene informazioni strutturali ed evolutive relative a ciascun residuo. Questo grafo viene poi elaborato dal modulo *ReceptorNet*, una rete neurale 'deep' addestrata per prevedere i residui che legano carboidrati sulla base di dati sperimentali dei complessi carboidrato-proteina. Infine, un modulo di tipo *transformer* utilizza l'output di *ReceptorNet*

per calcolare la probabilità di legame dei carboidrati per ciascun residuo (Fig. 2). Per l'addestramento e la validazione *DeepGlycanSite* utilizza un ampio set di dati sperimentali di complessi carboidrato-proteina, che include ~8100 proteine e più di 1700 carboidrati. La performance nella predizione dei siti di legame per monosaccaridi, disaccaridi e nucleotidi è risultata molto accurata, mediamente superiore rispetto ad altri metodi di *machine learning* e software tradizionali usati per localizzare siti per piccole molecole. Il tool è in grado di prevedere i siti di legame sia per proteine nella conformazione *holo*, ovvero legate a uno zucchero, sia per proteine *apo*, ovvero in assenza di ligandi, con prestazioni migliori rispetto ad altri software. Tuttavia, uno dei limiti di *DeepGlycanSite*, come per altri strumenti simili, rimane la difficoltà nell'identificare i siti di legame per oligosaccaridi.

Gli autori hanno sviluppato anche un altro strumento, *DeepGlycanSite+Ligand*, per identificare i vari siti di legame degli zuccheri sulla stessa proteina. Questo programma combina *DeepGlycanSite* con un modulo che traduce l'informazione bidimensionale dello zucchero in un grafo molecolare. Un modulo di tipo *transformer* integra poi *ReceptorNet* con il grafo del ligando per determinare la probabilità di legame dei carboidrati per ciascun residuo. Rispetto ai metodi di docking molecolare, che dipendono dall'accuratezza strutturale e dalle conformazioni delle catene laterali del sito, *DeepGlycanSite+Ligand* è meno sensibile all'accuratezza della struttura proteica.

European Chemical Societies Publishing



Chemistry Europe

- 16 chemical societies
- From 15 European countries
- Which co-own 20 scholarly journals
- Over 19 million downloads in 2022
- Over 120,000 articles published since 1995
- With 128 Chemistry Fellows and 8 Honorary Fellows recognized for excellence in chemistry

www.chemistry-europe.org

Analysis & Sensing

Analytical Science Advances 

Batteries & Supercaps


ChemBioChem

ChemCatChem

ChemElectroChem 

ChemistryEurope 

Chemistry - A European Journal

Chemistry - Methods 

ChemistryOpen 

ChemistrySelect

ChemMedChem

ChemPhotoChem

ChemPhysChem

ChemPlusChem

ChemSusChem

ChemSystemsChem

Electrochemical Science Advances 

European Journal of Inorganic Chemistry

European Journal of Organic Chemistry

 Open Access



Claudio Della Volpe
UNITN, SCI, ASPO-ITALIA
claudio.dellavolpe@unitn.it

BIOTECNOLOGIE E CHIMICA

Biotecnologie e chimica

Le biotecnologie sono definite internazionalmente come “qualsiasi applicazione tecnologica che utilizza sistemi biologici, organismi viventi o loro derivati, per realizzare o modificare prodotti o processi per un uso specifico”: si tratta di una definizione molto ampia e che ha dato origine a varie classificazioni come quella “a colori” mostrata nell’immagine sotto riportata. Essa è stata adottata a Nairobi il 22 maggio 1992, nel quadro della **Convenzione sulla diversità biologica** ratificata, ad oggi, da 196 Paesi.



1. Ciascuna Parte contraente adotta misure legislative, amministrative o politiche, a seconda dei casi, per garantire l'effettiva partecipazione alle attività di ricerca biotecnologica da parte delle Parti contraenti, in particolare dei paesi in via di sviluppo, che forniscono le risorse genetiche per tale ricerca e, ove possibile, in tali Parti contraenti.
2. Ciascuna Parte contraente adotta tutte le misure praticabili per promuovere e promuovere l'accesso prioritario, su base giusta ed equa, da parte delle Parti contraenti, in particolare dei paesi in via di sviluppo, ai risultati e ai benefici derivanti dalle biotecnologie basate sulle risorse genetiche fornite da tali Parti contraenti. Tale accesso avverrà secondo condizioni concordate di comune accordo.
3. Le Parti esamineranno la necessità e le modalità di un protocollo che definisca procedure adeguate, compreso, in particolare, un accordo informato in anticipo, nel campo del trasferimento, della manipolazione e dell'uso sicuri di qualsiasi organismo vivente modificato derivante dalla biotecnologia che possa avere effetti negativi sulla conservazione e l'uso sostenibile della diversità biologica.
4. Ciascuna Parte contraente fornisce, direttamente o richiedendo a qualsiasi persona fisica o giuridica sotto la sua giurisdizione che fornisce gli organismi di cui al paragrafo 3, tutte le informazioni disponibili sull'uso e sulle norme di sicurezza richieste da tale Parte contraente nella manipolazione di tali organismi, come nonché tutte le informazioni disponibili sul potenziale impatto negativo degli organismi specifici interessati sulla parte contraente in cui tali organismi devono essere introdotti.

Rosso	Biotecnologie mediche, veterinarie e farmaceutiche
Giallo	Biotecnologie alimentari
Blu	Biotecnologie marine
Verde	Biotecnologie agrarie o vegetali
Marrone	Biotecnologie delle zone aride e desertiche
Nero	Biotecnologie bioterroristiche
Violetto	Biotecnologie legali ed etiche
Bianco	Biotecnologie industriali
Oro	Biotecnologie bioinformatiche e nanobiotecnologie
Grigio	Biotecnologie ambientali

Uno degli strumenti principali di cui si avvalgono le biotecnologie nella loro forma moderna è l'ingegneria genetica, ma non solo, e chiaramente i procedimenti chimici vi hanno un ruolo predominante ed essenziale. Non si dovrebbero discutere questi temi astraendoli dal contesto socio-economico in cui vengono gestiti. Se si fa questo il problema di base diventa non tanto l'aspetto chimico specifico ma le sue ricadute sociali ed ambientali. Non ho qui né il tempo né le competenze per discutere un tema così profondo ed ampio: mi limiterò quindi a riportarvi un articolo della convenzione dedicato alle biotecnologie e che, mi pare, dovrebbe essere alla base di ogni scelta a riguardo; a voi valutare se poi questo avvenga o no:

Articolo 19. Gestione della biotecnologia e distribuzione dei suoi benefici

Il progresso della **SCIENZA** parte da qui.



6 buoni motivi per associarsi alla SCI

1 VOCE UNICA

Rappresentiamo e valorizziamo ogni singolo membro della comunità chimica

2 NETWORKING

Organizziamo attività congressuali ricche di opportunità e relazioni

3 FORMAZIONE

Progettiamo attività di formazione per docenti, insegnanti, ricercatori e professionisti

4 OPPORTUNITÀ

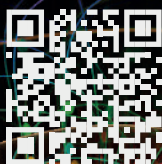
Agevoliamo percorsi scientifici e professionali con borse di studio, progetti e diffusione di informazione

5 PUBBLICAZIONI

Valorizziamo l'eccellenza nella ricerca e la comunicazione della nostra scienza in Italia, in Europa e nel mondo

6 NUOVE GENERAZIONI

Ogni anno ideiamo iniziative per appassionare gli studenti alla bellezza e all'importanza della Chimica



Associati subito

www.soc.chim.it